

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BUĞDAYLARDA SARI
PAS (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) IRKLARININ BELİRLENMESİ**

Ahmet ÇAT

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BUĞDAYLARDA SARI
PAS (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) IRKLARININ BELİRLENMESİ**

Ahmet ÇAT

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BUĞDAYLARDA SARI
PAS (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) IRKLARININ BELİRLENMESİ**

Ahmet ÇAT
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

**Bu tez Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından FBA-2017-2336 nolu proje
ile desteklenmiştir.**

OCAK 2021

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BUĞDAYLARDA SARI
PAS (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) IRKLARININ BELİRLENMESİ**

Ahmet ÇAT

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 15/01/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mürsel ÇATAL (Danışman)

Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK

Prof. Dr. Taner AKAR

Doç. Dr. Kadir AKAN

Doç. Dr. Özer ÇALIŞ

ÖZET

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BUĞDAYLARDA SARI PAS (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) IRKLARININ BELİRLENMESİ

Ahmet ÇAT

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mürsel ÇATAL

OCAK 2021; 81 sayfa

Puccinia striiformis f. sp. *tritici* (*Pst*)'nin neden olduğu sarı pas, buğdayın en önemli hastalıklarından birisidir. Bu çalışmada, 2018 ve 2019 üretim sezonlarında Akdeniz ve Ege bölgelerinde buğday yetiştirilen alanlardan *Pst* izolatları toplanmıştır. Her iki bölgeden toplanan *Pst* izolatlarının virülensliklerini belirlemek ve SSR primerleri ile izolatlar arasındaki genetik farklılığı ortaya koymak amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir. Virülens testi sonuçlarına göre, izolatların çoğunun dayanıklılık genleri üzerinde farklı virülenslik frekansına *Yr6* (%100), *Yr9* (%84), *Yr7* (%78), *Yr1* (%50), *Yr8* (%50), *Yr43* (%47), *YrSp* (%41) *Yr17* (%38), *Yr27* (%31), *Yr10* (%25), *Yr24* (%22), *Yr32* (%22), *Yr44* (%6) ve *YrTr1* (%6) sahip oldukları belirlenmiş ve izolatlar 6 virülens grup (VG) içinde kümeleneştir. Tüm izolatların sadece *Yr5* ve *Yr15*'e karşı avirulent olduğu saptanmıştır. Ayrıca, izolatlar genotipik verilere göre 4 moleküler grupta (MG) kümeleneştir ve Ege bölgesindeki izolatlar tüm MG'ler içinde yer alırken, Akdeniz bölgesindeki izolatlar üç MG'de (MG1, MG2 ve MG3) bulunmaktadır. Bunlara ek olarak, moleküler varyans analizi sonuçları, izolatlar arasındaki genetik varyasyon %52.20 ($p=0.001$) ve bölgeler içindeki izolatlar arasında %33.13 ($p=0.001$) olarak hesaplanmıştır. Ancak, bölgeler arasındaki %14.66'lık genetik varyasyon ($p=0.129$) istatistiksel açıdan önemli değildir. Virülens testleri ve genotipik verilere göre her iki bölgeninde karışık *Pst* yapısına sahip olduğunu ve bölgeler arasındaki göçün fazla olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar, *Pst*'ye karşı dayanıklılık için yürütülen buğday ıslah programlarına katkı sağlayacak ve popülasyon yapısı ile patojen hareketinin anlaşılmasına yardımcı olacaktır.

ANAHTAR KELİMELEER: Genetik çeşitlilik, Popülasyon yapısı, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, Virülens

JÜRİ: Doç. Dr. Mürsel ÇATAL

Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK

Prof. Dr. Taner AKAR

Doç. Dr. Kadir AKAN

Doç. Dr. Özer ÇALIŞ

ABSTRACT

DETERMINATION OF YELLOW RUST (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) RACES IN WHEAT GROWN IN THE MEDITERRANEAN AND AEGEAN REGION

Ahmet ÇAT

PhD Thesis in Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mürsel ÇATAL

January 2021; 81 pages

Stripe rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*) is one of the most important disease of wheat. In this study, *Pst* isolates were collected from wheat growing areas of Aegean and Mediterranean regions of Turkey during 2018 and 2019 growing seasons. The aims of the study were to determine virulence patterns of the *Pst* isolates collected from both regions, and understand the genetic variation of them using co-dominant SSR markers. Based on virulence analyses, most isolates were determined as virulent with various frequencies to the resistance genes *Yr6* (100%), *Yr9* (84%), *Yr7* (78%), *Yr1* (50%), *Yr8* (50%), *Yr43* (47%), *YrSp* (41%), *Yr17* (38%), *Yr27* (31%), *Yr10* (25%), *Yr24* (22%), *Yr32* (22%), *Yr44* (6%) and *YrTr1* (6%), and clustered into 6 virulence groups (VGs). However none of these was virulent to *Yr5* and *Yr15*. These were also clustered into 4 molecular groups (MGs) based on genotypic data, and while all MGs were located in the Aegean region, Mediterranean region had three MGs (MG1, MG2 and MG3). Additionally, analysis of molecular variance analysis showed that genetic variation between isolates was mostly within isolates, and among isolates within regions. Genetic variation within the isolates accounted for 52.20% ($p= 0.001$) and among the isolates within regions 33.13% ($p= 0.001$). However, genetic variation among regions was not statistically significant with 14.66% explained variation ($p= 0.129$). The results illustrated that both regions had more complex *Pst* structure according to virulence and genotypic data, and interregional migration was high. These data should be helpful in wheat breeding programs conducted for resistance to *Pst* and understanding for population structure and migration of the pathogen.

KEYWORDS: Genetic diversity, Population structure, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Virulence

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Mürsel ÇATAL

Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK

Prof. Dr. Taner AKAR

Assoc. Prof. Dr. Kadir AKAN

Assoc. Prof. Dr. Özer ÇALIŞ

ÖNSÖZ

Puccinia striiformis f. sp. *tritici* (*Pst*)'nin neden olduğu sarı pas hastalığı, buğdayda önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan fungal hastalıklarından birisidir. Yoğun epidemi görülen alanlarda hastalığın izlenmesi yeni virulent *Pst* ırklarının tanımlanması için önemli olup daha şiddetli epidemileri engellemek içinde yeni dayanıklılık genlerinin tanımlanması gerekmektedir. Bu amaçla yürütülen bu tez çalışmasında Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan *Pst* izolatları virülens ve moleküler olarak tanımlanmıştır. Çalışmada Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan *Pst* izolatları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Bu tez konusunu belirlemede yardımcı olan, çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, yönlendirici fikirleri ile bana yol gösteren danışmanım sayın Doç. Dr. Mürsel ÇATAL'a

Çalışmamda sarı pas ile ilgili bilgi ve tecrübelerini paylaşarak bana yol gösteren sayın Prof. Dr. Taner AKAR ve sayın Doç. Dr. Kadir AKAN'a

Arazi çalışmalarında ve çalışmamın diğer aşamalarında yardımını esirgemeyen arkadaşım sayın Arş. Gör. Mehmet TEKİN'e,

İrk ayırıcı seti sağlayan Amerika Birleşik Devletleri Washington State Üniversitesi Bitki Hastalıkları Bölümünde görevli Prof. Dr. Xianming Chen'e

Bu çalışmayı destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine (FBA-2017-2336 nolu proje), katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Bu zorlu süreçte beni destekleyen kıymetli eşime ve değerli aileme yaptıkları fedakârlıklarından dolayı sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
2.1. Sarı Pas (<i>Puccinia striiformis</i> f. sp. <i>tritici</i>) Hastalığının Önemi	4
2.2. Sarı Pasın Hayat Döngüsü	4
2.2. Sarı Pasın Irk Değişkenliği ve Taşınımı	5
2.3. Sarı Pas Hastalığının Durumu	9
2.4. Sarı Pas Hastalığı ile İlgili Çalışmalar	10
3. MATERYAL VE METOT	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Sarı pas bulaşık yaprakların toplanması	18
3.1.2. Virülens testlerinde kullanılan bitki materyali.....	21
3.2. Metot	22
3.2.1. Hastalık etmeninin çoğaltılması.....	22
3.2.2. Virülens testleri.....	25
3.2.2.1. Virülens testi sonuçlarının değerlendirilmesi	27
3.2.3. Moleküler çalışmalar	27
3.2.3.1. DNA izolasyonu.....	27
3.2.3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR).....	28
3.2.3.3. Agaroz jellerin hazırlanışı.....	30
3.2.3.4. PZR ürünlerinin jele yüklenmesi ve agaroz jel elektroforez	31
3.2.4. Moleküler verilerin analizi.....	31
3.2.4.1. Allel frekansları	31
3.2.4.2. Allel sayısı (Na).....	31
3.2.4.3. Etkili allel sayısı (Ne).....	31
3.2.4.4. Shannon indeksi (I).....	32

3.2.4.5. Gözlenen heterozigotluk (H_o)	32
3.2.4.6. Beklenen heterozigotluk (H_e).....	32
3.2.4.7. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC)	32
3.2.4.8. Göç eden birey sayısı (N_m).....	32
3.2.4.9. Genetik mesafe değerleri	33
3.2.4.10. Temel koordinat analizi (PCoA)	33
4. BULGULAR	34
4.1. Sarı Pas Enfekteli Bitkilerin Toplanması	34
4.2. <i>Pst</i> İzolatlarının Virülens Tanılanması	36
4.2. <i>Pst</i> İzolatlarının Moleküler Tanılanması	39
4.2.1. DNA izolasyonu.....	39
4.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR).....	40
4.3. Moleküler verilerin analizi	46
4.3.1. Genetik çeşitlilik parametreleri	46
4.3.2. Moleküler gruplar	48
4.3.3. Genetik uzaklık ve genetik benzerlik değerleri	49
4.3.4. Pairwise F_{st} değerleri	51
4.3.5. Göç eden birey sayısı (N_m) değerleri	52
4.3.6. Moleküler varyans analizi (AMOVA)	52
4.3.7. Temel koordinant analizi (PCoA).....	53
4.4. Akdeniz ve Ege bölgesindeki <i>Pst</i> izolatlarının virülens ile moleküler grubunun karşılaştırılması	53
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇLAR	59
7. KAYNAKLAR	61
8. EKLER.....	70
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Akdeniz ve Ege Bölgesinde Yetiştirilen Buğdaylarda Sarı Pas (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) Irklarının Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

15/01/2021

Ahmet ÇAT

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
<	: Küçük
>	: Büyük
±	: Artı-eksi
A	: Adenin
Bp	: Baz çifti
C	: Sitozin
°C	: Santigrat derece
Cm	: Santimetre
Da	: Dekar
dH ₂ O	: Distile su
ddH ₂ O	: Ultra saf su
Dk	: Dakika
G	: Gram
G	: Guanin
Ha	: Hektar
M	: Molar
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
Mm	: Milimolar
Ng	: Nanogram
P	: Önemlilik düzeyi
Sn	: Saniye
T	: Timin

U : Ünite
Ml : Mikrolitre
 μ M : Mikromolar

Kısaltmalar

AFLP : Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
AMOVA : Moleküler varyans analizi
DNA : Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA : Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EK : Enfeksiyon katsayısı
ET : Enfeksiyon tipi
EY : Enfeksiyon yüzdesi
FAO : Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GRCC : Küresel Pas Referans Merkezi
MG : Moleküler grup
Na : Allel sayısı
Ne : Etkili allel sayısı
I : Shannon indeksi
He : Beklenen heterozigotluk
Ho : Gözlenen heterozigotluk
Nm : Göç eden birey sayısı
NIL : Yakın izogenik hatlar
PCoA : Temel koordinant analizi
PIC : Polimorfik bilgi içeriği
Pi : Allel frekansı
Pst : *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*

PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SSR	: Basit dizi tekrarları
TBE	: Tris/Borik asit/EDTA Tampon çözeltisi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
uHe	: Yansız beklenen heterozigotluk
VG	: Virülens grup



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Sarı pasın hayat döngüsü	5
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan sarı pas izolatlarının alındığı konumlara ait görsel	19
Şekil 3.2. Arazi çalışmalarına ait bazı görüntüler.....	20
Şekil 3.3. Çalışma kapsamında viyollerde yetiştirilen ırk ayırıcı set.....	22
Şekil 3.4. Püskürtme ile hastalık inokulasyonuna ait görüntüler.....	23
Şekil 3.5. Fırça ile hastalık inokulasyonuna ait görüntüler.....	24
Şekil 3.6. (a) Sarı pas izolatlarının çoğaltılması; (b) Hassas çeşit üzerindeki gelişimi ..	24
Şekil 3.7. (a) Hastalık inokulasyonu yapılmış ırk ayırıcı set; (b) İnkübasyona bırakılan ırk ayırıcı set.....	25
Şekil 3.8. (a) İklim odasında virülens testlemesi; (b) Irk ayırıcı sette hastalık gelişimi.	26
Şekil 3.9. Enfeksiyon tipine ait görsel	27
Şekil 4.1. (a) <i>Hordeum murinum</i> 'da sarı pas enfeksiyonu; (b) Tritikale'de sarı pas enfeksiyonu	35
Şekil 4.2. Çalışmada bazı <i>Pst</i> izolatlarının virülens testi sonuçlarına ait görseller (a) TRYR11; (b) TRYR9; (c) TRYR21; (d) TRYR1 ve (e) TRYR2.	38
Şekil 4.3. Çalışmada 32 <i>Pst</i> izolatının virülens testlemesi sonucunda oluşturulan dendogram.....	39
Şekil 4.4. SSR analizlerinde kullanılan sarı pas DNA'larına ait agaroz jel görüntüleri ..	40
Şekil 4.5. (a) RJ8N SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) RJ18 SSR primerine ait jel görüntüsü.....	41
Şekil 4.6. (a) RJ20 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) RJ21 SSR primerine ait jel görüntüsü.....	41
Şekil 4.7. (a) CPS02 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) CPS04 SSR primerine ait jel görüntüsü	42
Şekil 4.8. (a) CPS08 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) CPS13 SSR primerine ait jel görüntüsü.....	42
Şekil 4.9. (a) PstP001 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) PstP002 SSR primerine ait jel görüntüsü	43
Şekil 4.10. (a) PstP003 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) PstP004 SSR primerine ait jel görüntüsü	43

Şekil 4.11. (a) PstP005 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) PstP006 SSR primerine ait jel görüntüsü.....	44
Şekil 4.12. (a) PstP007 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) PstP008 SSR primerine ait jel görüntüsü	44
Şekil 4.13. (a) PstP025 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) PstP029 SSR primerine ait jel görüntüsü.....	45
Şekil 4.14. (a) PstP030 SSR primerine ait jel görüntüsü; (b) PstP031 SSR primerine ait jel görüntüsü.....	45
Şekil 4.15. PstP033 SSR primerine ait jel görüntüsü	46
Şekil 4.16. Moleküler verilere göre oluşturulan dendogram	49
Şekil 4.17. Genetik uzaklık değerlerine göre oluşturulan filogenetik ağaç	51
Şekil 4.18. Çalışmadaki <i>Pst</i> izolatlarının PCoA analizi	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Dünya genelinde yaygın olan <i>Pst</i> ırklarının genetik grupları, virülens fenotipleri ve yaygın olduğu bölgeler	8
Çizelge 2.2. Dünya genelinde meydana gelen sarı pas epidemileri.....	9
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan sarı pas izolatlarına ait bilgiler.....	18
Çizelge 3.2. Bitkilerde pas hastalıklarına karşı reaksiyon tipleri	20
Çizelge 3.3. Irk tespit çalışmalarında kullanılan sarı pas ırk ayırıcı seti	21
Çizelge 3.4. Enfeksiyon tipinin belirlenmesinde kullanılan 0-9 skalası.....	26
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan <i>Pst</i> 'ye özgü SSR primerleri	29
Çizelge 3.6. SSR primerlerine ait PZR içeriği ve miktarları	30
Çizelge 3.7. SSR primerlerine ait PZR protokolü.....	30
Çizelge 4.1. Çalışmada Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan sarı pas izolatlarına ilişkin bilgiler	35
Çizelge 4.2. Çalışmada 32 <i>Pst</i> izolatının virülens testi sonuçları	36
Çizelge 4.3. Popülasyonlardaki özgün (private) allel sayısı	47
Çizelge 4.4. <i>Pst</i> popülasyonları arasındaki genetik benzerlik değerleri	50
Çizelge 4.5. <i>Pst</i> popülasyonları arasındaki genetik uzaklık değerleri	50
Çizelge 4.6. Popülasyonlar arasındaki pairwise <i>Fst</i> değerleri	51
Çizelge 4.7. Popülasyonlar arasındaki göç eden birey sayısı (<i>N_m</i>) değerleri	52
Çizelge 4.8. Moleküler varyans analizi sonuçları.....	52
Çizelge 4.9. Akdeniz ve Ege bölgesindeki izolatların virülens ve moleküler grupların karşılaştırılması	54

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde enerji kaynağı olarak kullanılan tahıllar arasında buğday (*Triticum L.*), geniş bir adaptasyon yeteneğine sahip olmasından dolayı 215 milyon ha ekiliş ve 765 milyon ton üretimle çeltikle birlikte dünyada ilk sıralarda yer almaktadır (FAOSTAT, 2019). Ayrıca ekmeklik buğday danesi uygun besin değeri, saklama ve işlenmesindeki kolaylıklar nedeniyle diyet lif ve B vitamini kaynağı olarak temel besin durumundadır. Buğday özellikle gelişmekte olan 94 ülkede yaşayan yaklaşık 4,5 milyardan fazla insan için yaşamsal öneme sahip olan kalorinin %20'sini sağlamakla birlikte protein kaynağının %20'sini de oluşturmaktadır (Braun vd. 2010). Ülkemizde de durum benzerdir. TÜİK (2019) yılı verilerine göre, Türkiye'de buğday ekim alanı 68.463.271 dekar, üretim 19.000.000 ton ve verim 278 kg/dekar olduğu rapor edilmiştir. Buğday ülkemiz için en stratejik ürünlerden birisi olup geniş üretim kitlelerini ilgilendirmektedir. Buğday verimi yağış miktarı, biyotik ve abiyotik faktörlere göre büyük değişiklik göstermektedir. Biyotik faktörler arasında basidiomycetes sınıfında üredinales takımında yer alan *Puccinia* cinslerinin sebep olduğu pas hastalıkları tüm dünyada buğday üretimini tehdit etmektedir. Geçmişte Türkiye'de önemli miktarda ürün kayıplarına neden olan pas epidemileri olmuştur. Buğdayda pas hastalığına sebep olan önemli türlerden bir tanesi sarı pas etmeni *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*) dir. Hastalık ilk defa 1915 yılında Amerika'da rapor edilmiştir ve geçmişten günümüze birçok epidemilere neden olmuştur. Hastalığın uzun mesafelere yayılmasında en önemli etmen rüzgâr olmakla birlikte insanların eşya ve kıyafetleriyle de sporlar uzak mesafelere taşınabilmektedir.

Pst'nin sebep olduğu sarı pas hastalığı dünya genelinde buğday yetiştiriciliği yapılan ülkelerde yaygın olarak görülen en yıkıcı hastalıklarından birisidir. Sarı pas hastalığının yoğun olarak görüldüğü bölgeler arasında Arap Yarımadası, Akdeniz, Orta Asya ve Kafkasya, Güney Asya, Doğu Asya, Doğu Afrika, Kuzeybatı Avrupa, Okyanusya ve Kuzey ve Güney Amerika olduğu rapor edilmiştir (Stubbs 1985; Wellings 2011; Chen ve Kang 2017). Stubbs (1988)'de muhtemel sarı pas bölgelerinin üredesporların yayılma potansiyeli ve sarı pas ırklarının coğrafik özellikler ile uyumlu olması veya virülens faktörlerinin benzerliğine dayanan küresel düzeyde farklı epidemiyolojik yerleri kapsayan bölgelere göre sınıflandırmıştır. Benzer şekilde sarı pasın yoğun olduğu bölgeler Çin (Zeng ve Luo 2006) ve Amerika'da (Chen 2005; Chen vd. 2010) tanımlanmıştır.

Farklı ülkelerdeki *Pst* popülasyonları klasik olarak farklı dayanıklılık geni içeren buğday genotipleri üzerinde virülens testi ile karakterize edilmektedir. Bu çalışmalar çoğunlukla Avustralya, Çin, Avrupa ülkeleri, Hindistan ve ABD'de yapılmıştır (Stubbs 1985, 1988; Line ve Qayoum 1992; Wellings 2007; Chen vd. 2009b; Wan vd 2004; Wan ve Chen 2014). Hastalık etmeni obligat parazit olduğundan dolayı patojenin çoğalması ve gelişmesi için konukçu bitkiye ihtiyaç duymakta ve virülens testlerinin yapılması içinde bitki büyütme kabinleri ve sera gerekmektedir. Ayrıca *Pst*'nin çoğalması için nispeten düşük sıcaklık gerekmemekte ve patojen ile çalışmak ve muhafaza etmek için özel alt yapı gerekmektedir. Bu belirtilen sebeplerden dolayı patojen ile çalışmak zor olduğundan birçok ülkede yoğun şekilde sarı pas hastalığı görülmesine rağmen yeterli düzeyde çalışılma yapılamamaktadır. 2006-2010 yılları arasında 16 ülkeden uluslararası işbirliği neticesinde alınan *Pst* izolatlarının virülens karakterizasyonu yapılmıştır (Sharma-Poudyal vd. 2013). Yapılan virülens çalışmaları

sonucunda patojenin ülkeler veya kıtalar arasındaki muhtemel göç yolları ortaya konmakta ancak virülence fenotipleme çalışmaları kullanılan ırk ayırıcı set içerisindeki dayanıklılık genleriyle sınırlandığından patojen virülense formülleri genetik çeşitlilik belirlemede etkili olmayabilir (Sharma-Poudyal vd. 2013).

Yoğun ve şiddetli hastalık epidemileri lider buğday üreticisi ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. *Pst* Amerika kıtasındaki ülkelerde, özellikle Amerika Birleşik Devletleri, Meksika, Şili ve diğer Kuzey Amerika ülkelerinde önemlidir. Benzer şekilde *Pst*; Avrupa, Orta Doğu (Stubbs 1985; Wellings 2011), Orta Asya (Morgounov vd. 2005), Çin (Chen vd. 2009b) ve kuzey Hindistan alt kıtasında (Singh vd. 2004) ciddi bir problemdir. Afrika'da hastalık etmeni Etiyopya, Kenya ve Uganda'nın dağlık bölgelerinde yetiştirilen buğdaylarda etkili olmaktadır (Stubbs 1988). Son yıllarda *Pst* başka ülkelere de yayıldı ve Avustralya, Yeni Zelanda ve Güney Afrika'da etkili olduğu bildirilmiştir (Wellings 2011). Patojen ile mücadelede dayanıklı çeşitlerin kullanılması hem ekonomik hemde fungusit kullanımını azaltarak çevreye karşı olan olumsuz etkileri en aza indirilmiştir olur (Line 2002; Chen 2005). Bununla birlikte, ırka özgü dayanıklılık genlerine sahip çeşitlerin yerleştirilmesinden sonraki birkaç yıl içinde patojenin yeni virulent ırkları (patotipleri) sıklıkla ortaya çıkmakta ve dayanıklı olan çeşitler hassas hale gelebilmektedir (Chen 2005; Sharma-Poudyal vd. 2013). Ortaya çıkan yeni *Pst* ırklarına karşı dayanıklılık sağlayan genlerinin etkinliğini yitirmesinden dolayı şiddetli *Pst* epidemileri yaşanmaktadır (Chen 2007). 1990 yılında Çinde *Yr9* (Chen vd. 2009b), 2002-2004 yılları arasında Hindistan ve Pakistan'da *Yr27*, 2009'da Güney ve Orta Asya'da *Yr27* geninin etkinliğini yitirmesinden dolayı şiddetli sarı pas epidemileri yaşanmış ve %50'den fazla ürün kayıpları meydana geldiği bildirilmiştir (Sharma-Poudyal vd. 2013).

Sarı pas ırkları ülkemize sürüklenerek batı Afrika'dan 1991 yılında gelmiştir. Ülkemize geliş güzergâhında olan ülkeler Irak, Mısır, İran, Suriye ve Afganistan, Pakistan'da önemli kayıplara sebep olmuştur. Türkiye'de yoğun bir şekilde ekilen Seri-82 çeşidini ciddi şekilde etkilemiş ve %62.5 oranında bir ürün kaybına neden olmuştur. Bu epidemi o kadar şiddetliydi ki bu çeşit o zamandan beri artık buğday üretiminde kullanılmamıştır. Ülkemizde mevcut *Pst* popülasyonları karşı ırk ayırıcı setler kullanılarak klasik olarak fenotipleme çalışmaları yapılmaktadır (Mamluk vd. 1997; Çetin vd. 2000; Zeybek ve Yiğit 2004; Mert vd. 2016).

Bitki patojenlerinde genetik çeşitliliğinin anlaşılması için etkili koruma stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Ali vd. 2014; Ordonez ve Kumar 2007). Nötral moleküler belirteçler genetik çeşitlilik ve popülasyon çalışmaları için yararlı olduğu belirtilmiştir (McDonald ve Linde 2002). *Pst* üredesporları dikaryotik olduğu için kodominant SSR belirteçleri heterozigot izolatları homozigot yapıda olan izolatlardan ayırmak için gereklidir. SSR belirteçleri dünyanın farklı bölgelerindeki *Pst* popülasyonlarının moleküler karakterizasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Enjalbert vd. 2002, 2005; Bahri vd. 2009; Chen vd. 2009a; Mboup vd. 2009; Duan vd. 2010; Bahri vd. 2011; Cheng vd. 2012; Cheng ve Chen 2014). Yapılan bu çalışmalar incelendiğine genellikle tek bir ülke veya bir bölge ile sınırlı olduğu görülmektedir. Farklı ülkelere *Pst* izolatlarının dahil edildiği çalışmalar genellikle az sayıdadır (Hovmöller vd. 2008; Ali vd. 2010, 2014; Sharma-Poudyal vd. 2020).

Bu çalışma ile ülkemiz açısından buğdaylarda önemli bir sorun olan sarı ya da çizgili pasın Akdeniz ve Ege bölgelerinde bulunan ırklarının tespiti, izolatların *Yr1*, *Yr5*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr17*, *Yr24*, *Yr27*, *Yr32*, *Yr43*, *Yr44*, *YrSP* ve *YrTr1* dayanıklılık genlerini içeren ırk ayırıcı setler ile testlenmesi ve 21 adet spesifik SSR primerleri (RJ8N, RJ18, RJ20, RJ21, CPS02, CPS04, CPS08, CPS13, PstP001, PstP002, PstP003, PstP004, PstP005, PstP006, PstP007, PstP008, PstP025, PstP029, PstP030, PstP031 ve PstP033) kullanılarak izolatların birbirinden farklılıkları moleküler olarak tespit edilmesi hedeflenmektedir.

Amaçlanan hedefe ulaşmak için çalışmada aşağıda belirtilen iş paketlerini ayrılmıştır.

Bunlar;

1. Enfekteli bitki örneklerinin toplanması
2. Fungus izolasyonu
3. Virülens testleri
4. Moleküler çalışmalar

Böylece populasyon içi genetik çeşitlilik ve populasyonlar arası genetik farklılık ve benzerlikler ortaya konacaktır. Elde edilen sonuçlar ile ülkemizin bu bölgelerinde yürütülen buğday ıslah programlarına katkı sağlanabilecektir.

2. KAYNAK TARAMASI

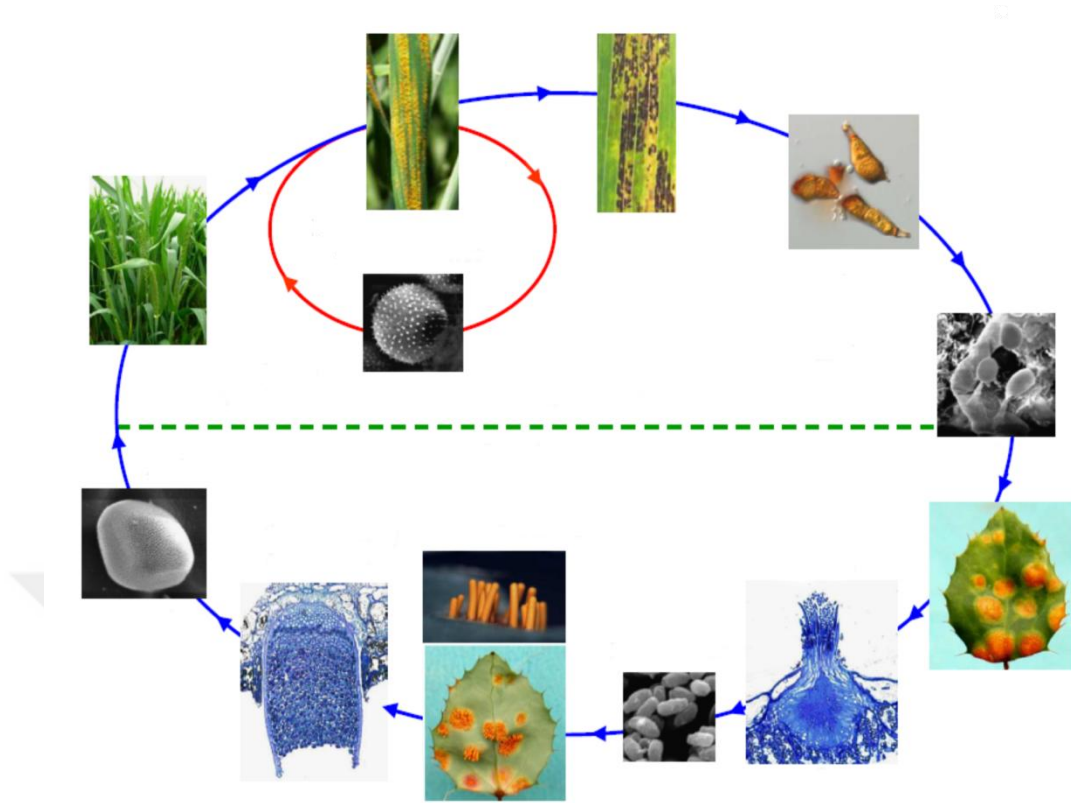
2.1. Sarı Pas (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) Hastalığının Önemi

Biyotik faktörler arasında Basidiomycetes sınıfında Üredinales takımında yer alan *Puccinia* türlerinin neden olduğu pas hastalıkları tüm dünyada buğday üretimini tehdit etmektedir. Buğdayda pas hastalığına sebep olan önemli türlerden bir tanesi sarı pas etmeni *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*'dir. Hastalık ilk defa 1915 yılında Amerika'da rapor edilmiş (Carleton 1915) ve ilk epidemiler de Amerika'nın Batı eyaletlerinde ortaya çıkmıştır (Boyd 2005). Sarı pas hastalığı son 15 yıl içinde, buğday üretimini sınırlandıran en önemli biyotik faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Singh vd. 2004) ve dünya buğday üretiminin %88'i bu hastalığa karşı hassastır. Yıllık 5 milyon ton ürün kaybı olduğu ve bu kaybolan ürünün pazar değerinin 1 trilyon dolar olduğu tahmin edilmektedir (Wellings 2011; Beddow vd. 2015). Hastalığın uzun mesafelere yayılmasında en önemli etmen rüzgâr olmakla birlikte insanların eşya ve kıyafetleriyle de pas sporları uzak mesafelere taşınabilmektedir. Sarı pas etmeni *Pst*, bitkilerin tek yapraklı döneminden olum dönemine kadar olan süreç içerisinde her zaman enfeksiyon yapabilmektedir. Enfekte ettiği yapraklarda ve özellikle bayrak yaprakta fotosentezi baskılayarak verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır (Chen 2005).

2.2. Sarı Pas Hastalığının Hayat Döngüsü

Puccinia striiformis f. sp. *tritici* (*Pst*)'nin sebep olduğu sarı pas hastalığı, sadece buğdayda değil aynı zamanda Poaceae familyası içerisinde yer alan diğer tahıl türlerinde de görülmektedir ve konukçusu olduğu bitki türüne göre farklı şekilde isimlendirilmiştir. Hastalık etmeni buğdayda *P. striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*), çavdarda *P. striiformis* f. sp. *secalis*, arpada *P. striiformis* f. sp. *hordei* (*Psh*), yabani arpa türlerinde (*Elymus* spp.) *P. striiformis* f. sp. *elymi* ve ayrıkta (*Agropyron* spp.) *P. striiformis* f. sp. *agropyri* olarak isimlendirilmiştir (Eriksson 1894).

Puccinia striiformis f. sp. *tritici* (*Pst*)'nin önceden ara konukçusu bilinmediğinden dolayı hayat döngüsünü buğdayda üredospor ve teliospor formunda geçirdiği düşünülüyordu ancak son yıllarda *Berberis* spp. türlerinin üzerinde *Pst*'ye ait pikniospor ve eziosporlar tespit edilmiş ve bu türün sarı pas hastalığının ara konukçusu olduğu rapor edilmiştir (Jin vd. 2010). *Pst*'nin ara konukçusu olarak *Berberis* spp. türlerinin dışında Berberidaceae familyası içerisinde yer alan *Mahonia aquifolium* türünde hastalığın konukçusu olduğu ve eşeyli safhasını bu bitkiler üzerinde tamamladığı bildirilmiştir (Wang ve Chen 2013; Zhao vd. 2013).



Şekil 2.1. Sarı pasın hayat döngüsü (Zheng vd. 2013)

Hastalık etmeninin çoğalması için iklim koşulları uygun değilse sezon sonunda enfekteli bitkiler üzerinde teliospor formunda görülmektedir. İklim koşullarının uygun olmasıyla bu sporlar çimlenerek basidiosporları oluştururlar. Oluşan basidiosporlar, hastalığın ara konukçusu olan *Berberis* spp. veya *Mahonia* spp. bitkilerini enfekte eder ve yaprağın üst kısmında pikniosporlar oluşur, alt kısmında ise eziosporlar meydana gelir. Bu eziosporlar rüzgar aracılığı ile buğday yaprakları üzerine ulaşır ve uygun nem ile sıcaklık koşullarında çimlenerek üredesporların oluşmasına sebep olur. Üredesporlar iklim koşullarının uygun olduğu zamanlarda üretim sezonu boyunca hastalığın yayılmasına sebep olurlar. Bu uygun iklim koşulları devam ederse epidemi hatta pandemiler meydana gelebilir. İklim koşulları uygun değilse yaprak üzerinde teliospora dönüşürlerve hastalık döngüsü tamamlanır (Agrios 2005).

2.2. Sarı Pasın Irk Değişkenliği ve Taşınımı

Dünya’da buğday üretimini etkileyen en önemli biyotik stres faktörlerinden biri *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*)’nin sebep olduğu sarı pas hastalığıdır. Bu sebeple hastalık etmenine karşı dayanıklı çeşit geliştirmek için ırkların ve etkili olan dayanıklılık genlerinin belirlenmesi ve hangi ırkların bulunduğu ve hangi bölgelerde hangi ırkların var olduğu veya yoğunluğunun belirlenmesi amacıyla bir çok araştırma yapılmıştır. Bu konuyla ilgili ilk çalışma 1932 yılında Almanya’da yapılmıştır (Gassner ve Straib 1932). Hastalık etmeni ırk ayırıcı setler kullanılarak popülasyon yapısı ve epidemiyolojisi belirlenmeye çalışılmış ve patojene karşı yürütülen dayanıklılık ıslahı çalışmaları artmıştır. Çalışmalarda, mutasyonun *Pst* ırklarının oluşumunda etkili olduğu

belirlenmiş (Gassner ve Straib 1932, 1933) ve patojendeki avirülens ve virülens farklılıklarının tek nokta mutasyonlarından olduğu bildirilmiştir (Wellings ve McIntosh 1990; Hovmöller ve Justesen 2007; Wellings 2007; Chen vd. 2009b). Patojenin ırkları, Johnson vd. (1972)'nin çalışmalarına göre adlandırılmaya çalışılmış ve ırk ayırıcı setlerlerden elde edilen sonuçlara göre Avrupa'daki *Pst* gruplarının yapısı belirlenmeye ortaya konmaya çalışılmıştır (Stubbs, 1988). Son yıllarda yapılan çalışmalarda; İngiltere, Danimarka, Fransa, Amerika, Çin ve Meksika'da oluşan yeni patotiplerin belirlenmesinde farklı yöntemler uygulanmakta ve farklı dayanıklılık genlerine sahip ırk ayırıcı setler kullanılmaktadır.

İrk ayırıcı setler kullanılarak patojenin virülens ya da avirülens olduğunu ortaya koymak için dünya genelinde farklı değerlendirme skalaları kullanılmaktadır (Bahri vd. 2011; Bux vd. 2012; Cheng ve Chen 2014; Brar ve Kutcher 2016; Wan vd. 2016). Son yıllarda ırk ayırıcı setler kullanılarak yürütülen çalışmalar sonucunda sarı pas hastalığına sebep olan Çin'de 41 (Chen vd. 2009b), 54 (Zhan vd. 2012), Pakistan'da 12 (Bahri vd. 2011), Amerika'da 34 (Wan ve Chen 2014) ve 55 (Wan vd. 2016) *Pst* ırkı saptanmıştır.

Hastalığın uzun mesafelere yayılmasında en önemli etmen rüzgâr olmakla birlikte insanların eşya ve kıyafetleriyle de hastalık etmeninin sporlarının uzak mesafelere taşındığına dair çok sayıda kayıt bulunmaktadır. Sarı pas etmeni *Pst*, bitkilerin tek yapraklı döneminden olum dönemine kadar ki süreç içerisinde hastalık için şartların uygun olduğu her zaman enfeksiyon yapabilmektedir. Enfekte ettiği yapraklarda ve özellikle bayrak yaprakta fotosentezi sınırladığı için verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır (Chen 2005). İrkların hızlı ve uzun mesafeye yayılması özellikle son 40 yıldır incelenmektedir. 1979'da Avustralya'da, Avrupa'dan seyahat eden turistlerin eşyalarında *Pst* üredosporların taşındığı tespit edilmiştir (Wellings vd. 1987). Yine benzer bir şekilde, 1996 yılında Güney Afrika'da görülen *Pst* ırklarının, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'da görülen *Pst* ırkları ile benzer olduğu keşfedilmiştir. 2000 yılında da Kuzey Amerika'da yeni bir ırk ortaya çıkmış (Chen vd. 2002; Chen 2007) ve bu ırkın 2002'de Batı Avustralya'da görülen ırkla çok benzer olduğu belirlenmiştir (Wellings vd. 2003). Hovmöller vd. (2008) farklı kıtalardan ve bölgelerden topladığı sarı pas izotlarını AFLP analizi ile karşılaştırmış ve benzerliklerine göre iki ana gruba ayırmıştır. İlk grup, daha çok Amerika ve Avustralya'da yaygın iken ikinci grubun Eritre, Batı Asya (İran, Azerbaycan) ve Orta Asya (Kazakistan, Özbekistan, Kırgızistan)'da yaygın olduğu bildirilmiştir.

Virulent *Pst* izolatlarının hızlı yayılmasını engellemek için bunun altında yatan küresel popülasyon yapılarını ve göç yollarını tespit etmek elzemdir. Bu amaçla yapılan küresel popülasyon genetiği çalışmaları sonucunda yüksek derecede genetik çeşitlilik ve patojene ait çok sayıda teliospor belirlenmesinden dolayı; Nepal, Pakistan ve Çin bölgelerinin eşeyli üremenin asıl bölgesi ve genetik çeşitliliğin merkezi olabileceği bildirilmiştir (Mboup vd. 2009; Duan vd. 2010; Ali vd. 2010, 2014).

Hastalığın görüldüğü diğer bölgelerde, *Pst* ırklarının tamamen eşeysiz olarak ürediği kabul edilmektedir (Schwessinger 2017). Bu verilere dayanarak muhtemel göç yolları ve ırkları Şekil 1'de gösterilmiştir. Walter vd. (2016) dünyanın farklı yerlerinden toplanan izolatlarla yaptıkları moleküler analizler sonucunda 2000 yılından önce Doğu

Afrika’da ortaya çıkan ve sonrasında Kuzey Amerika ve Avustralya yayılan ırk popülasyonlarını *PstS1* adıyla ve 2000 yılından sonra *PstS1*’den evrilerek Orta Asya’da ortaya çıkan ve bütün dünyaya yayılan ırk popülasyonlarını da *PstS2* olarak 2 patotip gruba ayırmıştır. Bu iki patotip grubun ortak özellikleri arasında yüksek sıcaklıklara adapte ve daha saldırgan olmaları sayılabilir (Walter vd. 2016; Schwessinger 2017). 2011 yılından itibaren özellikle Kuzey Batı Avrupa’da büyük zarara yol açan ırk popülasyonları ise “Warrior” ve “Kranich” olarak adlandırılmaktadır (Hovmöller vd. 2016; Walter vd. 2016).

Küresel Pas Referans Merkezi (GRRC) tarafından 2011 yılından bu yana her yıl kara, kahverengi ve sarı pas hastalığı ile ilgili her ülkeden örnek kabul edilmektedir. 2019 yılında yayınlanan rapora göre; sarı pasın dünya genelinde tanımlanan 16 *Pst* genetik grubu ve bu *Pst* grupları içerisinde yer alan sarı pas ırlarının virülens fenotipleri ile yaygın olduğu bölgelere ilişkin bilgiler Çizelge 2.1’de belirtilmiştir (Hovmöller vd. 2020). Çizelge 2.1’de sarı pas dayanıklılık genlerinin virülens ve avirülens (-) sembolü sırasıyla Yr1, Yr2, Yr3, Yr4, Yr5, Yr6, Yr7, Yr8, Yr9, Yr10, Yr15, Yr17, Yr24, Yr25, Yr27, Yr32, Spalding Prolific (Sp), Avocet S (AvS) ve Ambition (Amb) şeklindedir. Ayrıca Kalmar ve Benchmark yeni *PstS10* ırklarıdır.

Çizelge 2.1. Dünya genelinde yaygın olan *Pst* ırklarının genetik grupları, virülens fenotipleri ve yaygın olduğu bölgeler (Hovmöller vd. 2020).

Genetik grup	<i>Pst</i> ırkı	Virü lens fenotipi	Yaygın olduğu bölge
PstS0	Brigadier	1,2,3,-,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	Avrupa
	Brigadier,v4	1,2,3,4,-,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	Avrupa
	Madrigal_Lynx	1,2,3,-,-,6,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	Avrupa
	Madrigal_Lynx,v4	1,2,3,4,-,6,-,-,9,-,-,17,-,25,-,-,-,AvS,-	Avrupa
	Robigus	1,2,3,4,-,-,-,9,-,-,17,-,25,-,32,-,AvS,-	Avrupa
	Solstice_Oakley	1,2,3,4,-,6,-,-,9,-,-,17,-,25,-,32,-,AvS,-	Avrupa
	Tulsa	-,-,3,4,-,6,-,-,-,-,-,25,-,32,-,AvS,-	Avrupa
PstS1	PstS1	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	Kuzey Amerika, Avustralya
	PstS1,v1	1,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	Doğu Afrika
	PstS1,v1,v27	1,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,27,-,-,AvS,-	Doğu Afrika
PstS2	PstS2	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	Doğu Afrika, Batı Asya, Kuzey Asya
	PstS2,v1	1,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	Doğu Afrika
	PstS2,v3	-,-,2,3,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	Doğu Afrika
	PstS2,v27	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,27,-,-,AvS,-	Doğu Afrika, Batı Asya, Kuzey Afrika
	Pst2,v1,v27	1,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,27,-,-,AvS,-	Doğu Afrika, Batı Asya
	PstS2,v3,v27	-,-,2,3,-,-,6,7,8,9,-,-,-,25,27,-,-,AvS,-	Doğu Afrika
	PstS2,v10,v24	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,10,-,-,24,25,-,-,-,AvS,-	Doğu Afrika, Batı Asya
	PstS2,v10,v24,v27	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,10,-,-,24,25,27,-,-,AvS,-	Batı Asya
	PstS2,v3,v10,v24,v27	-,-,2,3,-,-,6,7,8,9,10,-,-,24,25,27,-,-,AvS,-	Doğu Afrika
PstS3	PstS3	-,(2),-,-,-,6,7,8,-,-,-,-,-,-,AvS,-	Avrupa, Kuzey Afrika, Batı Asya
	PstS3,v25	-,(2),-,-,-,6,7,8,-,-,-,-,25,-,-,-,AvS,-	Avrupa, Doğu Afrika
PstS4	Triticale2006	-,-,2,-,-,-,6,7,8,-,10,-,-,24,-,-,-,-	Avrupa
PstS5	PstS5	1,2,3,4,-,6,-,-,9,-,-,-,25,-,32,-,AvS,Amb	Orta Asya
	PstS5,v17	1,2,3,4,-,6,-,-,9,-,-,17,-,25,-,32,-,AvS,Amb	Orta Asya, Kuzey Asya
PstS6	PstS6	1,2,-,-,-,6,7,-,9,-,-,17,-,-,27,-,-,AvS,-	Doğu Afrika, Orta Asya, Kuzey Asya
PstS7	Warrior	1,2,3,4,-,6,7,-,9,-,-,17,-,25,-,32,Sp,AvS,Amb	Avrupa
PstS8	Kranich	1,2,3,-,-,6,7,8,9,-,-,17,-,25,-,32,-,AvS,Amb	Avrupa
PstS9	PstS9	1,2,3,4,-,6,-,-,9,-,-,-,25,27,32,-,AvS,Amb	Orta Asya, Kuzey Asya
	PstS9,v17	1,2,3,4,-,6,-,-,9,-,-,17,-,25,27,32,-,AvS,Amb	Orta Asya
PstS10	Warrior(-)	1,2,3,4,-,6,7,-,9,-,-,17,-,25,-,32,Sp,AvS,-	Avrupa, Kuzey Afrika
	Kalmar	1,2,3,4,-,6,7,-,9,-,-,17,-,25,-,32,Sp,AvS,-	Avrupa
	Benchmark	1,2,3,4,-,6,7,-,9,-,-,17,-,25,-,32,Sp,AvS,-	Avrupa
PstS11	PstS11	-,-,2,-,(4),-,-,6,7,8,-,-,-,17,-,-,27,32,-,AvS,-	Orta ve Batı Asya, Doğu Afrika
PstS12	Hereford	-,-,2,3,-,-,6,7,8,-,-,-,17,-,25,-,32,-,AvS,-	Avrupa
PstS13	Triticale2015	-,-,2,-,-,-,6,7,8,9,-,-,-,-,-,-,AvS,-	Avrupa, Güney Amerika, Batı Asya
			Avrupa, Kuzey Afrika
PstS14	PstS14	-,-,2,3,-,-,6,7,8,9,-,-,17,-,25,-,32,(Sp),AvS,-	Avrupa, Kuzey Afrika
PstS15	PstS15	1,2,3,-,-,6,7,-,9,-,-,17,-,25,-,32,-,AvS,Amb	Avrupa

2.3. Sarı Pas Hastalığının Durumu

Türkiye ve Dünya’da şu ana dek gerçekleşen ve önemli kayıplara sebep olan sarı pas epidemileri Çizelge 2.2’de verilmiştir (Wellings 2011; Çat vd. 2017).

Çizelge 2.2. Dünya genelinde meydana gelen sarı pas epidemileri

Bölge	Yıl	Oluşan epidemi/kayıp
Birleşik Krallık	1966	Rothwell Perdix epidemisi
	1969	Joss Cambier epidemisi
	1988-1989	Sleijpner, Hornet epidemisi
Avustralya	1983-1986	%80’e varan verim düşüşü
	2002-2010	Yıllık 40-90 milyon AUD \$ değerinde fungusit kullanımı (2003-2006)
Yeni Zelanda	1980-1981	%60’lık verim düşüşü
İran	1993	1.5 milyon ton ürün kaybı
Şili	1976-1988, 2001	Düzenli epidemiler
Amerika	1957-1958	Yaygın epidemi (10 eyalet)
	1960-1964	15-30 milyon \$ değerinde ürün kaybı
	2000	Yaygın epidemi (20 eyalet)
	2003	11.7 milyon ton ürün kaybı
Çin	1954	6 milyon ton ürün kaybı
	1964	3.2 milyon ton ürün kaybı
	1990	2.65 milyon ton ürün kaybı
	2002	1.4 milyon ton ürün kaybı
İspanya ve Kuzey Afrika	1978	Siete Cerros epidemisi
Güney Afrika	1996-1999	Yıllık 5-28 ZAR (0.4-2.24 milyon \$) değerinde fungusit kullanımı
Hindistan	1994-2004	Düzenli tekrarlanan epidemiler
	2001	Yr27 dayanıklılık geninin kırılması
Pakistan	2005	100 milyon \$ değerinde ürün kaybı
İtalya	1977-1978	Yaygın epidemic
Çek Cumhuriyeti	1977	Hassas çeşitlerde %30’luk verim azalması
Türkiye	1936-1963	Bazı yıllarda yaygın epidemic
	1975-1984	Bölgesel epidemiler
	1991	%62.5’e varan verim kaybı
	1998	Orta Anadolu’da %26.5-%50 verim kaybı
	2009-2010	Orta Anadolu ve Geçit Bölgelerinde epidemic

Çizelge 2.2’de görüldüğü üzere dünyanın bazı bölgelerinde sıklıkla buğday üretimini yapılan bölgelerde sarı pas epidemilerinin yaşandığı rapor edilmiştir. Görülen bu sarı pas epidemilerinin oluşması için;

1. Enfeksiyon oluşturmaya yeterli patojen miktarı,
2. Hastalığın oluşması ve yayılması için uygun iklim koşulları

3. Patojenin konukçusu olduğu bilinen bitkiler ile arasında olan etkileşim sonucunda meydana gelmektedir.

Bu üç koşulun meydana gelmesi sonucunda Çin, Pakistan, Hindistan, Doğu Afrika, Orta Doğu ve Kuzey Afrika'yı da kapsayan çok geniş bir bölgede sarı pasa hassas olan Siete Cerros çeşidi başta olmak üzere diğer çeşitler üzerinde de hastalığın çoğalması sonucunda 1970 yılında büyük bir pandemi meydana geldiği bildirilmiştir (Saari ve Prescott 1985). Bu meydana gelen pandeminin nedeni olarak yetiştiriciliği yapılan çeşitlerin birçoğunda var olan Yr2 dayanıklılık geninin hastalığa karşı etkinliğini kaybetmesinden dolayı olduğu düşünülmüştür (McIntosh 2009). Yine benzer şekilde sarı pasa karşı dayanıklılık sağlayan Yr9 geninin kırılmasından dolayı 1990'lı yıllarda Doğu Afrika'dan gelen hastalık Orta Doğu, Hindistan ve Pakistan'da pandemiye sebep olmuştur (Singh vd. 2004). Bu oluşan pandeminin geniş bir alanda etkili olmasının nedeni olarak Kızıl Deniz bölgesinde yer alan Yemen, Etiyopya ve Eritre'de 1986 yılında mutasyon sonucu ortaya çıkan yeni bir sarı pas ırkının sebep olduğu düşünülmektedir (Louwers vd. 1992; Walter vd. 2016). Meydana gelen bu ırk değişimi benzer şekilde Çin'de de Yr9 dayanıklılık genini içeren çeşitlerde epidemiye sebep olmuş ve verim kayıplarının %80'lere kadar ulaştığı rapor edilmiştir (Wan vd. 2004). Yine, 2002 yılında Batı Avustralya'da ortaya çıkan yeni bir sarı pas ırkının 2003 yılında Avustralya'da epidemiye sebep olmuş ve birçok çeşidin bu ırka karşı hassas olduğu bildirilmiştir.

2.4. Sarı Pas Hastalığı ile İlgili Çalışmalar

Buğday'da sarı pas hastalığına ilişkin Türkiye'deki ilk kayıt 1886 yılında M. Rasim tarafından belirtilmiştir (Özgen ve Kınacı 1985). Yine hastalığın buğday üretimi yapılan Orta ve Batı Anadolu'da 1936, 1940, 1950 ve 1963 yıllarında epidemi meydana getirdiği rapor edilmiştir (İren 1964). Türkiye'de sarı pas hastalığı ile ilgili 1975, 1976, 1977, 1984 ve 1991 yıllarında da orta seviyede epidemi görüldüğü rapor edilmiştir (Braun ve Saari 1992). Ülkemizde görülen en yıkıcı sarı pas epidemisi 1991 yılında, Batı Afrika'dan gelen sarı pas hastalığın ırk veya ırklarının sonucunda oluşmuştur. Bu meydana gelen epidemi özellikle güney kısımda yazlık olarak yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan ve Yr9 dayanıklılık geni içerdiği bilinen "Seri-82" çeşidinin yıkımına sebep olmuştur. Meydana gelen bu epidemi sonucunda bugünkü değeri 7 milyon TL olan bir verim kaybı olmuş ve "Seri-82" çeşidi sarı pas hastalığına hassas olduğu belirtilerek üretimden kaldırılma sebeplerinden birisi olmuştur (Braun ve Saari 1992; Mamluk vd. 1997).

Orta Anadolu'da hastalık gelişimi için iklim koşullarının uygun olması nedeniyle üretim alanlarının %98'inin sarı pas enfeksiyonu görüldüğü ve bunun sonucunda %26.5 ile %50 arasında verim kaybı yaşandığı rapor edilmiştir (Düşünceli vd. 2000). Günümüzde ise, ülkemizde sarı pas epidemileri yaygın olmamakla birlikte görülmektedir. Doğu Afrika'dan yeni tespit edilen *Pst* ırkının 2009-2010 yılları arasında ülkemizde yaygın olarak buğday üretimi yapılan Orta Anadolu ve geçit bölgelerinde bulunan illerde (Ankara, Konya, Eskişehir, Çukurova, Samsun, Amasya, Uşak) önemli verim ve kalite kayıpları meydana getirdiğini bildirmiştir (Mert 2010). Ülkemizde sarı pas enfeksiyonu bölgesel olarak değişmekle birlikte genel olarak nemin yüksek ve hava sıcaklığının 10-15 °C olduğu zamanlarda gerçekleşmektedir.

Ülkemizde farklı yıllarda sarı pas epidemileri yaşanmıştır. Özellikle Yr9 dayanıklılık genini içeren “Seri-82” çeşidinde çok şiddetli verim ve kalite kayıpları yaşanmıştır (Braun ve Saari 1992; Mamluk vd. 1997). Günümüzde yaygın olarak yazlık olarak ekilen birçok çeşitte sarı pas hastalığını kontrol etmek için yoğun şekilde fungisit kullanılmaktadır.

Sarı pasın ırklarını belirlemeye yönelik ülkemizde az sayıda çalışma bulunmaktadır. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından 1988 yılında yapılan araştırmada sarı pasa 2E16, 6E0, 6E16, 14E16, 46E13, 46E15, 70E0, 70E016 ve 86E16 sarı pas ırkları tanımlanmıştır. İlave olarak 1989 yılında 6E150 ırkı, 1991 yılında 2E0, 2E16, 6E16 ırklarının tespit edildiğini rapor edilmiştir (Louwers vd. 1992). Yapılan araştırmalar sonucunda ülkemizde belirlenen sarı pas ırklarına karşı dayanıklılık sağlayan genler ırk ayırıcı setler yardımıyla analiz edilmektedir. 1995 yılında yürütülen çalışmada Türkiye’de 5 farklı alanda görülen hastalık popülasyonu ırk ayırıcı setler kullanılarak test edilmiş ve bu popülasyona karşı dayanıklılık sağlayan genlerin Yr1, Yr2+, Yr5, Yr3V, Yr7+, Yr8+, Yr9+, YrCV, YrSp olduğu belirlenmiştir (Mamluk vd. 1997).

1995-1998 yılları arasında Ankara, Afyon, Konya ve Eskişehir lokasyonlarında yürütülen benzer bir çalışmada hastalık popülasyonu ırk ayırıcı setler kullanılarak analiz edilmiş ve tüm lokasyonlarda hastalık popülasyonunun dayanıklılık genleri Yr2, Yr6, Yr7, Yr9, Gaby ve A+ (Anza, Sonalika) üzerinde virulent olduğunu bildirilmişlerdir (Çetin vd. 2000).

2000-2001 yıllarında Batı Akdeniz ve Güney Ege’ de 9 lokasyonda yürütülen çalışmada doğal hastalık popülasyonuna karşı Yr6, Yr7, Yr8 ve Yr10 dayanıklılık genlerinin fide döneminde etkiliği olduğunu buna ilave olarak; Yr1, Yr2, Yr3a, Yr9, Yr17, Sd ve So dayanıklılık genlerinin ise fide döneminde dayanıklılık sağlamadığı tespit edilmiştir (Zeybek ve Yiğit 2004).

Ankara, Eskişehir, İzmir ve Samsun illerinde yürütülen Serin İklim Tahılları Hastalık Araştırmaları Projesi (ÜSİT-HAP) dahilinde doğal koşullarda meydana gelen enfeksiyon sonucunda tüm lokasyonlarda ırk ayırıcı setlerde hastalık gelişimi değerlendirilmiş olup hastalık popülasyonlarına karşı Yr1, Yr3N, Yr3V, Yr4+, Yr5, Yr10, Yr11, Yr15, Yr17, Yr26, Yr-St.Dc, Sp.Pr., YrCV, Yr Su x Om dayanıklılık genlerinin virulent reaksiyon göstermiş; Yr2, Yr6, Yr7, Yr8, Yr9, Yr12, Yr18, Yr24, YrA+, Yr2+, Yr6+, Yr7+, Yr9+ dayanıklılık genlerine karşı ise avirulent reaksiyon gösterdiği rapor edilmiştir (Anonim 2004).

2003-2011 yılları arasında 12 lokasyonda yürütülen çalışmalarda mevcut hastalık popülasyonuna karşı olgun bitki dayanıklılığı test edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda sarı pasa karşı dayanıklılık sağlayan Yr1, Yr3V, Yr4+, Yr5, Yr10, Yr15, YrSP ve YrCV genlerin hastalık popülasyonuna karşı avirulent reaksiyon gösterdiğini rapor etmişlerdir (Mert vd. 2012). İlave olarak, 2014 yılında yürütülen başka bir çalışmada ise Edirne ve Sakarya illerinde buğday yetiştiriciliği yapılan alanlardan toplanan sarı pas izolatları sera koşullarında ırk ayırıcı setler kullanılarak hastalık değerlendirilmesi yapılmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda izolatların dayanıklılık genleri Yr1, Yr2, Yr3, Yr4, Yr6, Yr7, Yr9, Yr17, Yr25, Yr32 ve YrSp’ye karşı virulent olduğunu bildirmişlerdir (Mert vd. 2016).

Sarı pas hastalığı son 15 yıl içinde, küresel besin kaynaklarını ve buğday üretimini sınırlandıran en önemli biyotik faktör olarak bilinmektedir. Dünya buğday üretiminin %88'i bu hastalığa karşı hassastır ve yıllık 5 milyon ton ürün kaybına sebep olmaktadır. Bu kaybolan ürünün Pazar değeri tahmini 1 trilyon dolardır (Wellings 2011; Beddow vd. 2015).

Puccinia striiformis f. sp. *tritici* (*Pst*), düşük genetik çeşitlilik ve heterokaryotik yapısından dolayı populasyon genetiği ve dinamiğini belirlemek için yüksek polimorfik markır gereklidir. Bu amaçla yürütülen çalışmada; genomun fonksiyonel olan bölgelerinden 20 tane yeni EST-SSR markırı geliştirilmiştir. Bilinen genler ile iki-altı arasında değişen allel sayısı ve sekiz mikrosatellit bölgesinde önemli derecede benzerlik görülmüştür. Ayrıca gözlenen ve beklenen heterozis sırasıyla 0.12-0.78 ve 0.24-0.78 arasında değişmektedir (Chen vd. 2009a).

Çin'de buğday yetiştirilen 15 bölgede 2003-2007 yılları arasında *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*) ırklarını, çeşitliliğini ve virülensliğini belirlemek amacıyla 4.714 sarı pas izolatu toplanmış, 41 ırk tanımlanmıştır. Tanımlanan bu ırklardan 12 tane yaygın olanın dağılımı, yoğunlukları bölgesel bazda belirlenmiştir (Chen vd. 2009b).

Çin'de baskın olan iki *Pst* ırkı CYR32 ve CYR33'e karşı ırk spesifik SCAR markırı geliştirmek amacıyla 2007 yılında toplanan 86 izolatu Çin ırk ayırıcı setler kullanılarak virülenslikleri belirlenmiştir. İrkları belirlemek için 94 tane RAPD primeri kullanmış ve 12 tane izolat CYR33, 14 izolat CYR32 ve 60 tanesinin 13 diğeri ırk olduğu belirlenmiştir. Primer S1271 (5'- CTTCTCGGTC-3') ile elde edilen 320 bp büyüklüğündeki bant CYR32 ırkını, primer S1304 (5'-AGGAGCGACA-3') ile 550 bp ile CYR33 ırkı tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen bantlar kesilip sekanslanması sonucunda CYR32sp1/sp2 ve CYR33sp1/sp2 SCAR primerleri geliştirilmiştir (Wang vd. 2010).

Pakistan'da buğday sarı pas populasyonunun virülensliğini araştırmak ve SSR ile genetik çeşitliliğini belirlemek amacıyla yapılan araştırmada, 49 *Pst* izolatu analizi sonucunda 12 farklı *Pst* ırkı belirlenmiştir. İzolatların virülensliği v2 (virulent Yr2'e karşı), v6, v7, v9, vSU ve v27 63-100% arasında değişiklik göstermiştir. Virülens v3, v4, v17 ve vSD'nin yaygın olmadığı belirlenmiş; v5, v10, v15, v24, v32 ve vSp ise tespit edilememiştir. SSR çalışmalarında 12 ırkın analizi yapılmış 62 polimorfik allel tanımlanmış, verilerin analizi sonucunda 27 ayrı genotip 5 grup içinde kümelenmiştir (Bahri vd. 2011).

Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünü tarafından geliştirilen 50'si ekmeklik ve 25'i makarnalık olmak üzere toplam 75 buğday çeşidi 2010 üretim sezonunda lokal sarı pas populasyonlarına karşı test edilmiştir. Çalışma sonucunda 58 çeşidin sarı pasa karşı dayanıklı olduğu tespit rapor edilmiştir (Akan vd. 2012).

Puccinia striiformis f. sp. *tritici* (*Pst*) izolatlarının virülensliğini belirlemek amacıyla, 46 Pakistan *Pst* ve 9 US *Pst* izolatu kullanılmıştır. Pakistan izolatları Yr17, Yr24 ve Yr25 genlerini taşıyan setlerde düşük virülenslik (%18-19); YrA, Yr1, Yr2, Yr6, Yr7, Yr8, Yr9, YrUkn, Yr27, Yr28, Yr31 ve YrExp2 taşıyan setlerde yüksek virülenslik gösterdiği, Yr5, Yr10, Yr15, Yr32 ve YrSP' de ise virulent olmadığı; US izolatlarının ise

Yr1 ve *Yr25* e karşı düşük (%22); *Yr2*, *Yr7*, *Yr17*, *Yr31* ve *Exp2* yüksek virülenslik (%67-100); *Yr5*, *Yr15* ve *YrSP*'de ise virulent olmadığı belirlenmiştir (Bux vd. 2012).

Tibet, Çin' de 2010 yılında sarı pas ırklarını belirlemek amacıyla 261 izolat 19 genotip içeren buğday ırk ayırıcı setleri ile test edilmiştir. Testleme sonucunda 19' u bilinen ırklardan (CYR17, CYR20, CYR21, CYR22, CYR23, CYR29, CYR31, CYR32, CYR33, Lov13-6, Su11-1, Su11-2, Su11-3, Su11-4, Su11-5, Su11-6, Su11-7, Su11-8 ve Su11-13), 4 tanesi yeni ırk olmak üzere toplam 248 izolat tanımlanmış ve CYR32 ile CYR33 ırklarının baskın olduğu belirlenmiştir (Hu vd. 2012).

Çin ve US *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*) populasyonlarının virülensliğini ve genetik farklılığını saptamak için 86 *Pst* Çin izolatından 17 Çin ayırıcı set kullanılarak 54 ırk, 20 ABD ayırıcı set kullanılarak 52 ırk; 51 *Pst* US izolatından ABD ayırıcı set ile 50 ırk, Çin ayırıcı set ile 41 ırk belirlenmiştir. Toplam 137 izolat 12 SSR primeri ile taranmış ve 102 genotip (71 Çin- 31 ABD) tanımlanmıştır. Ayrıca virülenslik verilerine göre 20 virülens grup (VGs), SSR analizine göre 7 moleküler grup (MGs) belirlenmiştir. Virülens ve SSR verileri arasında düşük ($R: 0.34$), ama ($P<0.01$) önemli bir korelasyon görülmüştür (Zhan vd. 2012).

Pakistan (27), Orta-Doğu (9), Kuzey-Afrika (4), Güney-Fransa (2) ve Kuzey-Fransa (1)' dan toplam 43 sarı pas izolatları arasındaki polimorfizm 15 SSR primeri kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan 13 SSR primeri ile polimorfizm belirlenirken 2 tanesi ile belirlenememiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda çalışmada kullanılan SSR markırları ile dünya genelinde *Pst* populasyon yapısının ve uzun mesafelere göç yollarının belirlenebileceği belirtilmiştir (Bahri vd. 2009). 2013 yılında yürütülen çalışmada, Amerika Birleşik Devletleri'nin 28 eyaletinden sarı pas ile enfekteli buğday örneği alınmıştır. Sarı pasın ırklarını belirlemek için 18 buğday ırk ayırıcı seti kullanılmış ve 34 *Pst* ırkı tespit edilmiştir. Bu ırklardan 8 tanesinin yeni ırk olduğu belirlenmiştir. PSTv-52 (%39), PSTv-37 (%13), PSTv-11 (%8), PSTv-73 (%8) ve PSTv-14 (%5) en yaygın beş ırk olduğu, PSTv-52, PSTv-37 ve PSTv-73 ırklarının örnek alınan tüm eyaletlerde bulunduğu ve PSTv-11 ve PSTv-14 ise sadece ABD'nin batı kesimlerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr27*, *Yr43*, *Yr44* ve *YrExp* en yüksek; *Yr1*, *YrTr1* ve *YrTye*'nin orta; *Yr10*, *Yr24*, *Yr32* ve *YrSP*'nin düşük virülensliğe sahip oldukları ve *Yr5* ve *Yr15* ise virülens olmadıkları belirlenmemiştir (Wan ve Chen 2014).

Sarı pasın ırk yapısının karakterizasyonu ve populasyon çeşitliliğini belirlemek amacıyla Kanada' da yürütülen çalışmada; 27 yakın izogenik buğday hattı, dört ilave hat ve bir tritikale ile birlikte genetik olarak benzer 24 *Pst* izolatı çalışılmıştır. DNA izolasyonunun ardından illumina MiSeq platform kullanılarak tüm genom sekanslanmış ve SNP markırı ile polimorfizm araştırılmıştır. Patojenin 18 ırkı tanımlanmış ve *Yr1*, *Yr5*, *Yr15* ve *YrSP* genlerinin tüm ırklara karşı dayanıklı olduğu, virülens çeşitliliği *Yr10*, *Yr24* ve *YrSu* genleri üzerinde gözlemlenmiştir. Ayrıca SNP data sonucunda *Pst* populasyonları arasında varyasyonun az olduğu tespit edilmiştir (Brar vd. 2014).

2010 yılı, ABD tarihindeki sarı pasın en yaygın olduğu yıl olarak kaydedilmiştir. Aşırı şekilde fungusit kullanılmış ve önemli miktarda ürün kaybı meydana gelmiştir. Meydana gelen bu epidemi sonrasında 18 *Yr* tek gen içeren yeni ırk ayırıcı set sarı pasın virülensliğini belirlemek için kullanılmaya başlanmıştır. 24 eyaletten 381 örnek alınmış

ve 348 izolat elde edilmiştir. Yeni ırk ayırıcı setler kullanılarak farklı genotipe sahip 41 ırk PSTv-1 ile PSTv-41 olarak adlandırılmış, önceden kullanılan ırk ayırıcı setler ile karşılaştırılma yapılmış ve hangi ırkın hangi eyalette yoğun olduğu tespit edilmiştir (Wan ve Chen 2014).

Çoğunluğu 2011 ve 2013 yılları arasında Kanada'nın Saskatchewan ve güney Alberta bölgelerinden toplanan 59 *P. striiformis* f. sp. *tritici* izolatı virülens sıklığı ve çeşitliliği bakımından analiz edilmiş ve ABD'nin Kuzeybatı Pasifik ve Büyük Vadiler (Great Plains) bölgelerinden karakterize edilen izolatlarla karşılaştırılmıştır. 20 izogenik hattında dahil olduğu 31 buğday ayırıcı çeşit ve 1 tritikale çeşidi 59 *P. striiformis* f. sp. *tritici* izolatını %31'i bir izolat C-PST-1 den oluşan 33 ırka ayırmıştır. İzolatların hiçbirisi Yr5, Yr15 veya YrSP üzerinde virulent bulunmamıştır. YrA, Yr2, Yr8, Yr9, Yr27, Yr29, Yr32, YrSu, 'Heines VII', ve 'Nord Deprez' üzerinde virülens sıklığı %65 ile %98 arasında değişiklik göstermiştir. Ayırıcı set içinde en çok sayıda çeşitte virülens olan ırk C-PST-6 (n=25) en az ise C-PST-18 (n=14) olmuştur. Ana bileşenlerin ayırıcı analizi ve çok değişkenli küme analizleri birbirinden virülens spektrumu ve toplama yıllarına göre farklılık gösteren 4 ana grup tespit etmiştir. *P. striiformis* f. sp. *tritici*'in güney Alberta'daki popülasyonundaki çeşitliliğin Saskatchewan'dakinden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Kanada ve Amerikan izolatlarının karşılaştırılması Saskatchewan ırklarının ABD nin her iki bölgesi izolatları ile güçlü korelasyon göstermelerine rağmen Great Plain izolatları ile çok büyük benzerlik göstermiştir. Bu da *P. striiformis* f. sp. *tritici*'in Saskatchewan izolatlarının ABD izolatlarının bir karışımı olduğunu göstermiştir (Brar ve Kutcher 2016).

2011 ve 2012 yıllarında Amerika'da toplanan sarı pas örnekleri 18 Yr tek gen ayırıcı seti üzerinde test edilerek *P. striiformis* f. sp. *tritici*'nin virülenslikleri ve ırkları belirlenmiştir. 2011 yılında Amerika'nın 19 eyaleti ve Kanada'nın Ontario eyaletinden toplanan 349 canlı örnekten belirlenen 35 ırk içinde PSTv-11 (%35.5), PSTv-37 (%12.6), PSTv-14 (%11.8), PSTv-4 (%5.4) ve PSTv-34 (%3.4) en yaygın 5 ırk olarak belirlenmiştir. ırkların Yr6, Yr7, Yr8, Yr9, Yr17, Yr27, Yr44 ve YrExp2'ye yüksek sıklıkla (%80 den fazla), Yr1, Yr43, YrTr1'e karşı orta derecede (%20-80), Yr10, Yr24, Yr32 ve YrSP'ye düşük (%10'dan az) virülens olduları ve Yr5 ile Yr15'e virülens olmadıkları saptanmıştır. 2010-2012 arasında ABD' de belirlenen 55 ırk iki ana virülens grubu içinde yer almıştır (Wan vd. 2016).

1958-1991 yılları arasında Orta Doğu, Doğu Afrika, Akdeniz, Yakın Batı Avrupa, Güney Asya, Amerika ve Avustralya'dan elde edilen 212 *P. striiformis* izolatı, 19 SSR belirteci kullanılarak analiz edilmiştir. Dünya'da 7 genetik grup oluşmuş ve 6 grubun elde edilen izolatlar ile uyumlu olduğu Orta Doğu'nun ise uyumlu olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca Güney Asya bölgesindeki yüksek varyasyon rekombinant popülasyon yapıları Himalaya ve yakın Himalaya bölgesinin *P.striiformis*'in genetik çeşitliliğinin merkezi olduğunu doğrulamaktadır (Thach vd. 2016).

Küresel düzeyde sarı pasın ırk analizi ve moleküler tanılama amacıyla Danimarka'da bulunan küresel pas referans merkezine Asya ve Afrika'daki 9 ülkeden (Afganistan, Azerbaycan, Eritra, Etiyopya, Irak, Morocco, Pakistan ve Tanzanya) toplam 174 sarı pas enfekteli yaprak örneği ve Avrupa'daki 12 ülkeden (Hırvatistan, Danimarka, Finlandiya, Macaristan, İtalya, Litvanya, Norveç, İspanya, İsveç, İngiltere ve Ukrayna) toplam 275 sarı pas enfekteli yaprak örneği gönderilmiştir. Araştırma

kapsamında örnekler ırk ayırıcı set üzerinde ve SSR primerleri ile analizi gerçekleştirilmiştir. Afrika ve Asya'da AF2012, PstS2, PstS2 (v27), PstS5 (v17), PstS5 (v17,27), PstS6, Warrior, Pst (new) ve diğer tanımlaması devam eden ırklar; Avrupa'da PstS2 (v27), PstS6, Warrior, Warrior (-), Warrior [(-), Amb], Kranich, Hereford, Tulsa, Tritikale 2006, Tritikale 2015, Pst (new) ve ırkları tanımlanmıştır. İlk kez Avrupa ve Doğu Afrika/Batı Asya'da pas epidemisi ile ilgili virülensliği yüksek iki yeni ırk Pst (new) virülens fenotipi (2, 3, 6, 7, 8, 9, 17, 25, 32, Sp, AvS) tespit edilmiş ve Avrupa'da en yaygın olan ırkın Warrior (-) olduğu, Doğu Avrupa'dan Batı Asya'ya kadar yayıldığı ve tanımlanan bu yeni ırkın warrior ile virülens fenotipinin aynı olduğu için bu iki ırkın moleküler olarak ayırt edilebileceği rapor edilmiştir (Hovmöller vd. 2017a).

2017 yılında Afrika, Asya, Avrupa, Amerika kıtasındaki 28 ülkeden toplam 315 sarı pas örneği ırk ayırıcı set üzerinde ve SSR primerleri ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre Afrika ve Asya'da genetik grupların yaygınlığı PstS2 (%20.5), PstS7 (%1.4), PstS9 (%27.4), PstS11 (%13.7), PstS14 (% 28.8) ve diğer (%8.2); Amerika'da PstS7 (%2.6), PstS13 (%78.9), PstS14 (%13.2) ve diğer (%5.3); Avrupa'da ise PstS0, PstS2, PstS4, PstS7, PstS8, PstS10, PstS13, PstS14 genetik grupları belirlenmiş ve %49.2'sinin PstS10 olduğu rapor edilmiştir. Avrupa'da en yaygın genetik grubun PstS10 olduğu en az yaygın olanların ise PstS7 (Warrior) ve PstS8 (Kranich) olduğu belirlenmiş ancak yeni alanlara yayıldığı belirtilmiştir. Ayrıca Yr5 ve Yr15'e karşı virulent olan izolat tespit edilmemiştir (Hovmöller vd. 2018).

2018 yılında Afrika, Asya, Avrupa, Amerika kıtasındaki 28 ülkeden toplam 396 sarı pas örneği ırk ayırıcı set üzerinde ve SSR primerleri kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda Afrika ve Asya'da (PstS1, PstS2, PstS9, PstS11, PstS14 ve diğer), Avrupa'da (PstS4, PstS7, PstS8, PstS10, PstS13, PstS14 ve diğer) ve Amerika'da (PstS7, PstS13 ve PstS14) genetik grupları belirlenmiştir. Avrupa'da en yaygın genetik grubun PstS10 olduğu, Yr5 ve Yr15'e karşı virulent olan izolat rapor edilmemiştir (Hovmöller vd. 2019).

Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünü tarafından 2006 yılında geliştirilen 61 makarnalık buğday hattı 3 baskın sarı pas popülasyonuna karşı sera ve tarla koşullarında test edilmiştir. Hastalık okumaları modifiye Cobb skalasına göre yapılmış ve enfeksiyon katsayısı 20 veya daha az olanlar dayanıklı olarak değerlendirilmiştir. Test edilen 3 hastalık popülasyonunun Yr5, Yr10, Yr15, Yr24, Yr26 ve Yr32 genlerine karşı avirulent olduğu (etkili olmadığı) rapor edilmiştir (Akan 2019).

Küresel düzeyde sarı pasın (*Pst*) genetik varyasyonu belirlemek amacıyla yürütülen çalışma kapsamında aralarında Türkiye'nin de bulunduğu 8 coğrafik bölgedeki 16 ülkeden 283 *Pst* izolatı toplanmış ve 24 SSR belirteci kullanılarak analiz edilmiştir. 283 izolat 8 moleküler grup (MG) içine kümelenmiştir. Çalışmada 2009-2010 yıllarında Türkiye'den toplanan 56 *Pst* izolatının Çin, Pakistan, Özbekistan, Nepal, Şili izolatları ile birlikte farklı MG içinde yer aldığı belirlenmiştir (Sharma-Poudyal vd. 2020).

2010-2011 yıllarında Lübnan ve Suriye'de ciddi sarı pas epidemileri sonucunda önemli verim kayıpları yaşanmıştır. Bu meydana gelen epidemilerin kaynağını araştırmak amacıyla Lübnan'dan 114 ve Suriye'den 159 izolat olmak üzere toplam 273 *Pst* izolatı toplanmıştır. Tüm izolatlar 20 SSR belirteci kullanılarak analiz edilmiş

ve 54 izolatin patotiplemesi yapılmıştır. Dünya genelinde 2000 yılından beri yaygın olan ve farklı patotip çeşitliliğe sahip PstS2 popülasyonunun çalışılan bölgede baskın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada belirlenen PstS2 popülasyonunun 1981 ve 2010 yılları arasında dünya genelinde yürütülen çalışmalarda yaygın olan PstS2'den farklı olduğu ve bu popülasyon ile ilişkili yeni 22 multilokus genotip tespit edilmiştir. Yine, Lübnan ve Suriye izolatları arsında herhangi bir farklılık olmadığı ve Suriye'de baskın olan popülasyonun Lübnan'da da görüldüğü belirlenmiştir. Suriye'de baskın olan patotipin Yr2, Yr6, Yr7, Yr9, Yr25 ve Yr27 genleri üzerinde virulent olduğu; Yr3, Yr8, Yr17 ve YrSP genleri üzerinde farklı virülentlik seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Yr1, Yr4, Yr5, Yr10, Yr15 ve Yr32 genlerinin ise tüm izolatlara karşı dayanıklılık sağladığı rapor edilmiştir (El Amil vd. 2020).

2018 ve 2019 yıllarında yürütülen çalışma kapsamında 2018 yılında 476 örnek (Afrika ve Orta ve Batı Asya'dan 196, Avrupa'dan 202, Güney Amerika'dan 49 ve Güney Asya'dan 29); 2019 yılında 285 örnek (Afrika ve Orta ve Batı Asya'dan 75, Avrupa'dan 210 örnek) toplanmıştır. SSR ile 285 izolatin genotiplemesi yapılmıştır. Yine 65 izolatin genetik gruplaması ile genetik gruplar içerisinde ortaya çıkan yeni ırkların patotiplemesi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada virülens fenotipi (2, 4, 6, 7, 8, 17, 27, 32, AvS) olan PstS11 genetik grubunun Etiyopya, Kenya, Ruanda, Tanzania, Uganda ve Türkiye'de varlığı belirlenmiştir. İlave olarak Mısır'da tespit edilen ve ME2018 olarak isimlendirilen yeni bir ırk tanımlanmış ve bu ırkın Türkiye'de ekmeklik ve makarnalık buğdaylarda görüldüğü rapor edilmiştir (Hovmöller vd. 2020).

Pakistan'daki Himayala bölgesi, Khyber Pakhtunkhwa (KP), Güney KP, Merkez ve Kuzey Punjab buğday üretim alanlarında 2013 yılında sarı pas epidemisi yaşanmıştır. Bu meydana gelen epidemiye sebep olan *Pst* popülasyon yapısını araştırmak amacıyla yürütülen çalışmada 266 *Pst* izolatu toplanmış ve 16 SSR belirteci ile analiz edilmiştir. Simpson indeksinin 0.870 (Himayala bölgesinde) ile 0.955 (Güney KP) arasında değiştiği belirlenmiştir. Diğer bölgeler ile karşılaştırıldığında Himayala ve Merkez KP popülasyonunda rekombinasyonun daha fazla oranda olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca Pakistan'da toplam genetik çeşitliliğin Avrupa, Avusturalya ve Amerika'daki klonal *Pst* popülasyonlarından daha fazla olduğu rapor belirlenmiştir (Khan vd. 2020).

Mısır'da 2017-2018 ve 2018-2019 buğday yetiştirme döneminde ekilen çeşitlerin sarı pasa karşı olan hassasiyetlerini belirlemek amacıyla yürütülen çalışmada ilk yıla göre ikinci yılda ergin dönemde hassasiyetin fazla olduğu belirlenmiştir. İlk yıl test edilen 20 çeşidin sekiz tanesinde ve dört dayanıklılık geninde 80S' e kadar okuma yapıldığı, ikinci yılda ise Sids-12 ve Gemmeiza-11 çeşitleri (90S), bunu Misr-1 (80S), Misr-2 (70S), Giza-163 (60S), Yr7 ve Yr9 (80S) olduğu saptanmıştır. Misr-1, Misr-2, Gemmeiza-5, Gemmeiza-12, Giza-167 ve Shandweel-1 ilk yıl MR okuması yapılmış ancak ikinci yıl bu çeşitler dayanıklılığını kaybetmiştir. Yr2, Yr4, Yr6, Yr7, Yr8, Yr9, Yr10, Yr25, Yr27, Yr32 ve YrSp dayanıklılık genlerini içeren ırk ayırıcı set üzerinde Mısır'daki 64E0, 0E16, 66E0, 4E130, 2E0, 2E16, 4E0, 6E4, 70E4, PstS2, PstS3 ve Tritikale agresif *Pst* ırkları analiz edilmiştir. Sadece Yr9 dayanıklılık geni hassas olan Sids-13, Gemmeiza-7, Gemmeiza-9, Gemmeiza-10, Gemmeiza-11, Gemmeiza-12 ve Shandweel-1 çeşitlerinde tespit edilmiş ve STS *iag95* belirteci ile de moleküler olarak teyit edilmiştir (Shahin vd. 2020).

Zimbabve’de 2018 yılında deniz seviyesinden 1.200 m yükseklik de bulunan farklı deneme yerlerinde sulanan yazlık ekmeklik buğdaylarda (*Triticum aestivum* L.) yoğun sarı pas enfeksiyonu yaşanmış ve hassas çeşitlerde enfeksiyonun 100S olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca hastalık etmeninin Zimbabve’de ilk kez meydana geldiği bildirilmiştir. Meydana gelen bu yoğun sarı pas enfeksiyonunu araştırmak amacıyla yürütülen çalışmada patojenin standart ırk ayırıcı set üzerinde testlemesi yapılmış ve *Yr1*, *4b*, *5*, *10*, *15*, *24*, *32*, *Cle*, *Mor*, *Sd*, *Sp*, *Su* ve *HVII* genlerine karşı avirü lent, *Yr2*, *3a*, *4a*, *6*, *7*, *8*, *9*, *19*, *25*, *27* genleri üzerinde virü lent olduğu belirlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan Güney Afrika 6E22A+ izolatu ise sadece üç çeşitte virü lent olduğu belirlenmiştir. Çalışmadaki izolatlar 30E142A+ olarak tanı lanmıştır. Yapılan testlemelerde 30E142A+ izolatu 24 Zimbabve ekmeklik buğday çeşidinden 22’ sinde virü lent olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu ırk 15 SSR primeri ile analiz edilmiş ve Kenya sarı pas izolatu Ken12/09 ile aynı molekü ler grup içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Daha sonra SCAR primeri ile yapılan analiz sonucunda 30E142A+ izolatının PstS1 olduğu, Ken12/09 izolatının ise PstS2 olduğu saptanmıştır (Boshoff vd. 2020).

2015-2016 üretim sezonunda Mısır’da yaygın olarak ekilen ve daha önce tanımlanan Mısır’daki *Pst* ırklarına karşı Misr1, Misr2, Giza171 ve Sakha61 dayanıklı buğday çeşitleri tarla koşullarında hassas hale geldiği tespit edilmiştir. Ayrıca sarı pas enfeksiyonu *Yr* gen taşıyan (*Yr1*, *Yr17*, *Yr27*, *Yr32* ve *YrSp*) bazı buğday hatlarında görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre Mısır’da *Yr1* üzerinde virü lent olan yeni bir ırk tanımlanmış ve bu yeni ırkın ‘Warrior’ ırk ile oldukça benzer virü lens fenotipine *Yr1*, *Yr2*, *Yr3*, *Yr4*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr25*, *Yr32*, *YrSp* ve *YrAmb* sahip olduğu rapor edilmiştir (Shahin 2020).

Pakistan’da yürütü len bir çalışmada baskın olan 574232 ırkı hassas Himayala *Berberis pseudumbellata* bitkisinde eşeyli olarak üremesi sonucunda 115 izolat elde edilmiştir. Elde edilen bu izolatlar ve 574232 ırkı 24 *Yr* tek gen içeren ırk ayırıcı set üzerinde ve on SSR primeri ile analiz edilmiştir. Çalışmada 25 virü lens fenotipi ve 60 multilokus genotipi tanımlanmıştır. İzolatların *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr24*, *Yr32*, *Yr43*, *YrSp*, *YrTr1*, *YrExp2*, *Yr26* ve *YrTye* karşı avirü lent; *Yr1*, *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr25*, *Yr27*, *Yr28*, *YrA*, *Yr44* ve *Yr3*’e karşı virü lent olduğu belirlenmiştir (Mehmood vd. 2020).

2011 yılından bu yana *Puccinia striiformis* f.sp.’nin ‘Kranich’ ırkı birçok Avrupa ülkesinde tespit edilmiş ve Avrupa’daki *Pst* popü lasyonunun değ işmesine katkıda bulunmuştur. Bu ırkı incelemek amacıyla yürütü len çalışma kapsamında *Berberis vulgaris* bitkisi teliosporların çimlendirilmesi sonucunda elde edilen basidiosporlar ile inokule edilmiş, ardından piknidyum oluşumu ve eziospor oluşumu ile dö ngünün tamamlanması sağ lanmıştır. Elde edilen eziosporlar buğday fidelerine inokule edilmiş ve 124 izolat elde edilmiştir. Rastgele 23 izolat seçilmiş 19 SSR primeri ile analiz edilerek izolatların ebeveynleri doğrulanmıştır. Ardından tespit edilen 8 heterozigot SSR primeri kullanılarak izolatların genotiplemesi yapılmış ve 18 yeni multilokus genotip tanımlanmış ve ‘Kranich’ ırkının yüksek rekombinasyon yeteğine sahip olduğu belirlenmiştir (Rodriguez-Alaba vd. 2020).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Sarı pas bulaşık yaprakların toplanması

Çalışma kapsamında Akdeniz ve Ege bölgelerinde yaygın olarak buğday ekimi yapılan illerde toplanan sarı pas izolatlarına ilişkin bilgiler Çizelge 3.1’de belirtilmiştir. Genelde bir tarlada tek bir çeşit veya hattan toplanan muhtemelen her biri tek bir üredosporun enfeksiyonu sonucu üretilen sadece tek ürediniyum (püstül) şeridi (çizgi şeklinde) içeren bir veya daha fazla yaprak bir örnek sayılmıştır. Akdeniz ve Ege bölgelerinde yapılan survey çalışmaları sonucunda Akdeniz bölgesinden 15 sarı pas izolatı, Ege bölgesinden 13 sarı pas izolatı toplanmıştır. İlave olarak çalışmada kullanılan izolatları karşılaştırmak amacıyla 2008, 2011, 2012 ve 2017 yıllarına ait sarı pas izolatları da çalışmaya dahil edilmiştir. Çizelge 3.1’de görüldüğü üzere çalışmada toplam 32 sarı pas izolatı kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan sarı pas izolatlarına ait bilgiler

İzolat No	Akdeniz Bölgesi	Tür	İzolat No	Tür	Ege Bölgesi
TRYR1	Adana	Ekmeklik	TRYR12	Ekmeklik	Afyon
TRYR2	Mersin	Ekmeklik	TRYR13	Ekmeklik	Denizli
TRYR3	Antalya	Tritikale	TRYR18	Ekmeklik	Muğla
TRYR4	Antalya	Tritikale	TRYR19	Makarnalık	Denizli
TRYR5	Antalya	Ekmeklik	TRYR20	Ekmeklik	Manisa
TRYR6	Kahramanmaraş	Ekmeklik	TRYR21	Ekmeklik	Aydın
TRYR7	Antalya	Ekmeklik	TRYR22	Ekmeklik	İzmir
TRYR8	Antalya	Makarnalık	TRYR23	Tritikale	İzmir
TRYR9	Isparta	Makarnalık	TRYR24	Ekmeklik	Manisa
TRYR10	Burdur	Makarnalık	TRYR25	Tritikale	Muğla
TRYR11	Antalya	Makarnalık	TRYR26	Makarnalık	Uşak
TRYR14	Burdur	Ekmeklik	TRYR27	Ekmeklik	Afyon
TRYR15	Isparta	Ekmeklik	TRYR28	Makarnalık	Kütahya
TRYR16	Hatay	Ekmeklik			
TRYR17	Mersin	Ekmeklik			
İzolat No	İl				
TRYR35	Edirne (2017)				
TRYR43	Şanlıurfa (2011)				
TRYR44	Şanlıurfa (2012)				
TRYR56	Ankara (2008)				

Yürütülen arazi çalışmalarında toplanan örnekler şeffaf kâğıtlar arasına veya kâğıt zarflar içine konarak Akdeniz Üniversitesi yerleşkesi içerisinde yer alan hastalık çoğaltma laboratuvarına getirilmiştir. Örneklemeye çalışması tek püstül şeridi izolatlarını elde etmek ve patojenin maksimum populasyon çeşitliliğini sağlamak için sarı pasın erken gelişme dönemlerinde (nisan- mayıs aylarında) alınmıştır.

Sarı pas sezonu esnasında oluşan her orijinal izolatın ikili veya daha fazla kopyalarını toplamaktan kaçınmak için örnekler her bir tarladan en az 50 metre aralıklarla alınmıştır (Cheng ve Chen 2014). Çalışmada yürütülen survey çalışmaları sonucunda Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan 28 sarı pas izolatının alındığı konumlar GPS cihazı ile kaydedilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan sarı pas izolatlarının alındığı konumlara ait görsel

Örneklerin toplandığı yer, buğday çeşit ve hattı, buğdayın büyüme safhası, pasın yaygınlığı (% enfekteli bitkiler), enfeksiyonun şiddeti (% enfekteli yaprak alanı), enfeksiyon tipi (IT) değerleri kaydedilmiştir. Toplanan örnekler mümkünse aynı gün laboratuvara getirilmiş veya portatif (araç tipi) bir buzdolabında araç içinde tutulmuştur. Örnekler çalışmada kullanılacak hassas bir buğday çeşidine inoküle edilene kadar 4 °C’de muhafaza edilmiştir. Alternatif olarak toplanan örnekler kâğıt zarflar içinde kurutulmuş ve işlenene kadar 4 °C’de buzdolabında saklanmıştır.

Hastalık okumaları Modifiye Cobb Skalası göre yapılmıştır (Prescott vd. 1986). Hastalık şiddeti pas püstülleri ile kaplı olan alanın yaprak alanına oranlanmasıyla hesaplanmıştır. Reaksiyon tipi ise Çizelge 3.2’de belirtildiği şekilde belirlenmiştir. Enfeksiyon katsayısı (EK); enfeksiyon yüzdesi (hastalıklı yaprak alanı) x enfeksiyon tipi için belirlenen katsayılar ile (0:0; R:0.2; MR:0.4, MR-MS:0.6; MS:0.8 ve S: 1) çarpılarak hesaplanmıştır (Akan vd. 2012).

Çizelge 3.2. Bitkilerde pas hastalıklarına karşı reaksiyon tipleri

0	Gözle görülür bir enfeksiyon yok.
R (Dayanıklı)	Nekrotik (ölü dokular) lekeler var. Bunlarda pas püstülleri yoktur veya çok küçüktür
MR (Orta dayanıklı)	Nekrotik alanlarla çevrili küçük püstüller görülmektedir
MS (Orta hassas)	Küçükten orta büyüklüğe kadar püstülleri görülür. Nekrotik lekeler yoktur, belirgin klorotik lekeler bulunabilir.
S (Hassas)	Büyük püstüller vardır, nekrotik veya klorotik alan yok

Çalışma kapsamında sarı pas enfekteli bitki örnekleri toplamak amacıyla Akdeniz ve Ege bölgelerinde yürütülen arazi çalışmalarına ait fotoğraflar Şekil 3.2’de belirtilmiştir.

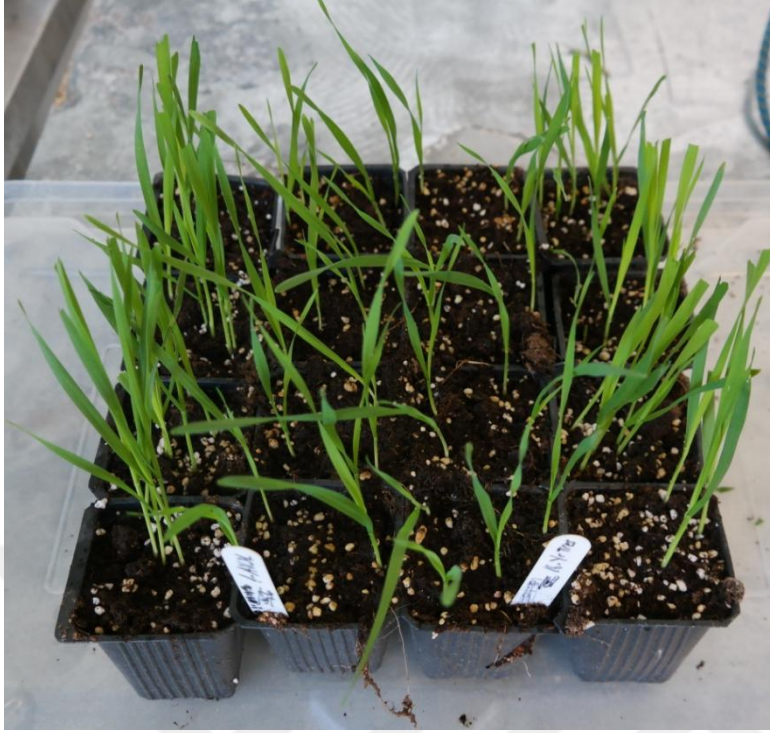
**Şekil 3.2.** Arazi çalışmalarına ait bazı görüntüler

3.1.2. Virölens testlerinde kullanılan bitki materyali

Çalışmada kullanılan sarı pas izolatlarının virölens testlemesi çalışmalarında (virulent/avirulent) kullanılmak üzere Amerika'dan her biri tek bir dayanıklılık geni içeren 16 adet genotip temin edilmiştir (Çizelge 3.3). Bu belirtilen 16 genotipden oluşan ırk ayırıcı set Akdeniz Üniversitesi yerleşkesi içerisindeki yer alan hastalık çoğaltma laboratuvarındaki bitki yetiştirme kısmında viyollerde yetiştirilmiştir (Şekil 3.3).

Çizelge 3.3. Irk tespit çalışmalarında kullanılan sarı pas ırk ayırıcı seti

No	Genotip	<i>Yr geni</i>	ID no.
1	AvSYr1NIL	<i>Yr1</i>	WG00003
2	AvSYr5NIL	<i>Yr5</i>	WG00004
3	AvSYr6NIL	<i>Yr6</i>	WG00014
4	AvSYr7NIL	<i>Yr7</i>	WG00005
5	AvSYr8NIL	<i>Yr8</i>	WG00006
6	AvSYr9NIL	<i>Yr9</i>	WG00007
7	AvSYr10NIL	<i>Yr10</i>	WG00008
8	AvSYr15NIL	<i>Yr15</i>	WG00009
9	AvSYr17NIL	<i>Yr17</i>	WG00010
10	AvSYr24NIL	<i>Yr24</i>	WG00016
11	AvSYr27NIL	<i>Yr27</i>	WG00018
12	AvSYr32NIL	<i>Yr32</i>	WG00031
13	Avs/IDO377s (F3-41-1)	<i>Yr43</i>	WG00097
14	Avs/Zak (1-1-35-line1)	<i>Yr44</i>	WG00098
15	AvSYrSPNIL	<i>YrSP</i>	WG00019
16	AvSYrTres1NIL	<i>YrTr1</i>	WG00020



Şekil 3.3. Çalışma kapsamında viyollerde yetiştirilen ırk ayırıcı set

3.2. Metot

3.2.1. Hastalık etmeninin çoğaltılması

Hastalık etmeni obligat parazit olduğundan dolayı izolasyon işlemi doğrudan üredesporlardan yapılmıştır. Genetik olarak uniform veya tek spor izolatları elde etmek için laboratuara getirilen örnekler üzerinde bulunan üredesporlar TÜBİTAK 117O043 nolu proje kapsamında Amerika ‘dan temin edilen mini siklon spor toplama aracı (https://www.tallgrassproducts.com/mini_cyclone_spore_collector) ile 00 jelatin kapüller içerisine çekilmiştir. Her izolata ait mini siklon spor toplama aracı ile çekilen ve kapsüllere aktarılmış olan üredesporlardan 25 mg tartılarak 5 ml’lik novac 7100 kimyasalının içerisine eklenmiştir (Sorensen vd. 2016). Çekilen bu sporlar püskürtme (airbrush kompresör) aracılığıyla sarı pasın tüm ırklarına hassas olduğu bilinen “Morocco” buğday çeşidinin iki yaprak safhasında bulunan fidelerine püskürtülmüş (Şekil 3.4)



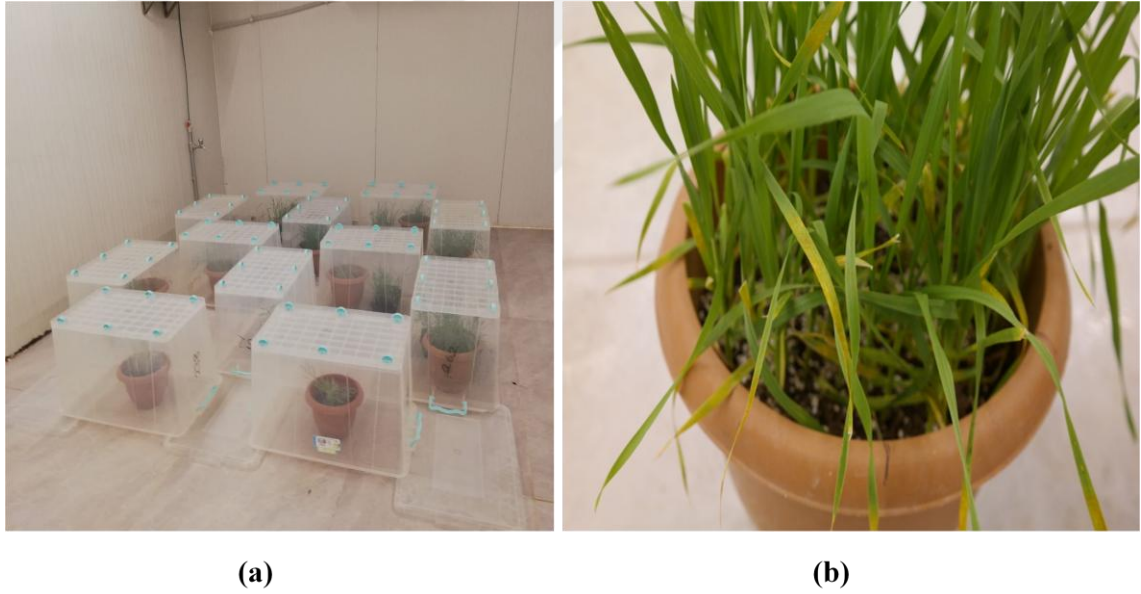
Şekil 3.4. Püskürtme ile hastalık inokulasyonuna ait görüntüler

Daha sonra püskürtme haznesi içinde kalan üredesporlar ince bir fırça ile yapraklara sürülerek yapay olarak inokule edilmiştir (Şekil 3.5). İnoküle edilen bitkiler iklim odasında ışısız 10 °C ve %90'ın üzerinde nem koşullarında 24-36 saat süreyle ön inkübasyon uygulanmış, inkübasyon süresinin ardından hastalığın gelişimi için 16 saat gündüz (12-18 °C ve %70 nem), 8 saat gece (10-12 °C ve %65 nem) koşullarında hastalığın gelişimi izlenmiştir (Chen vd. 2002; Cheng ve Chen 2014; Wan vd. 2016).



Şekil 3.5. Fırça ile hastalık inokulasyonuna ait görüntüler

Her bir örnekten alınan üredosporlarla (farklı izolatlarla) enfekteli her bir bitki karışmayı önlemek için plastik bölmelerle birbirinden ayrılmış küçük kabinlere yerleştirilmiştir (Şekil 3.6a).



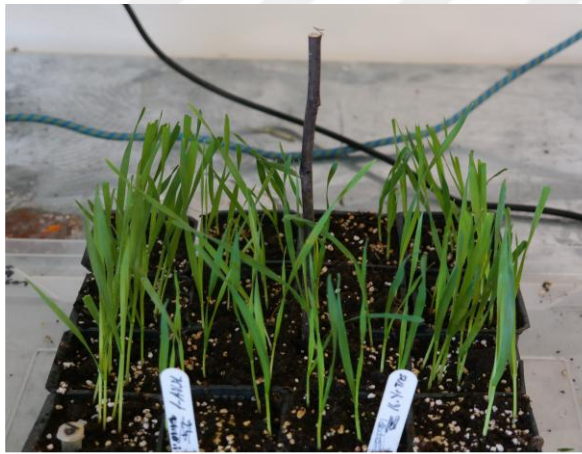
Şekil 3.6. (a) Sarı pas izolatlarının çoğaltılması; **(b)** Hassas çeşit üzerindeki gelişimi

Hassas çeşit yaprakları üzerinde oluşan üredosporlar mini siklon spor toplama aracı toplanmıştır (Şekil 3.6b). Elde edilen bu üredosporlar ayırıcı çeşit ve hatlar üzerinde yapılacak virülens testlerinde ve DNA ekstraksiyonlarında kullanılmak için 4 °C sıcaklıkta bir desikatör içinde tutulmuştur (Cheng ve Chen 2014; Wan vd. 2016).

3.2.2. Virülens testleri

Toplanan her bir örnekten elde edilen her tek spor izolatının üredosporları her biri Amerika'dan temin edilen *Yr1*, *Yr5*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr17*, *Yr24*, *Yr27*, *Yr32*, *Yr43*, *Yr44*, *YrSP* ve *YrTr1* sarı pasa dayanıklılık sağlayan geni taşıyan izogenik Yr tek-gen ayırıcı hat buğday seti üzerinde test edilerek virülenslikleri belirlenmiştir. (Cheng ve Chen 2014; Wan vd. 2016). Kontrol olarak ise herhangi bir dayanıklılık geni içermeyen Avs genotipi kullanılmıştır. Irk ayırıcı sette bulunan genotiplerin listesi Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Her izolata ait mini siklon spor toplama aracı ile çekilen ve kapsüllere aktarılmış olan üredosporlardan 25 mg tartılarak 5 ml'lik Novec 7100 kimyasalının içerisine eklenmiştir. Daha sonra püskürtme seti yardımıyla fide döneminde Çizelge 3.2'de belirtilen genotipleri içeren bitkiler önce nemlendirilmiş ardından steril kabin içerisinde hastalığa ait üredosporlar püskürtülmüştür (Sorensen vd. 2016). İnokülasyondan sonra bitkilerin (Şekil 3.7a) nemini korumak için üzerine poşet geçirilmiş (Şekil 3.7b) ve iklim odasında ışısız 10 °C ve %90'ın üzerinde nem koşullarında 24-36 saat süreyle ön inkübasyon uygulanmıştır. İnkübasyon süresinin ardından hastalığın gelişimi için 16 saat gündüz (12-18 °C ve %70 nem), 8 saat gece (10-12 °C ve %65 nem) koşullarında hastalığın gelişimi izlenmiştir (Şekil 3.6a,b) (Chen vd. 2002; Cheng ve Chen 2014; Wan vd. 2016). Bir izolatin inokülasyonundan diğer izolata geçerken püskürtme seti %70'lik etanol ile temizlenerek steril edilmiştir. Aynı zamanda steril kabin de %70'lik etanol ile silinip UV açılarak steril hale getirilmiştir.



(a)



(b)

Şekil 3.7. (a) Hastalık inokülasyonu yapılmış ırk ayırıcı set; **(b)** İnkübasyona bırakılan ırk ayırıcı set



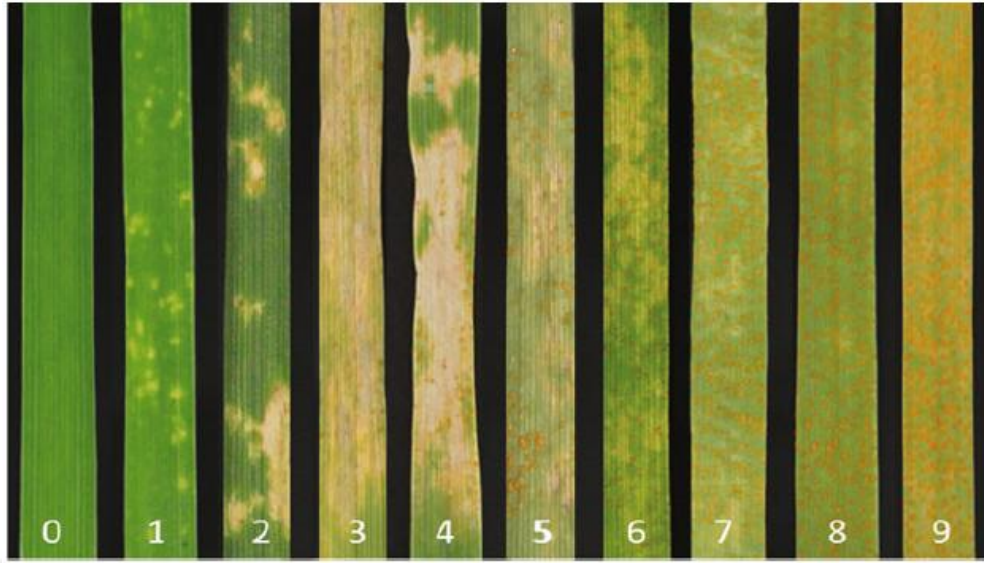
Şekil 3.8. (a) İklim odasında virülens testlemesi; (b) Irk ayırıcı sette hastalık gelişimi

Enfeksiyon tipleri (ITs) inokulasyondan 18-20 gün sonra 0-9 skalasına göre (Çizelge 3.4) derecelendirilerek kayıt edilmiştir (McNeal vd. 1971). Enfeksiyon tipinin belirlenmesinde kullanılan 0-9 skalasına ait görsel Şekil 3.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Enfeksiyon tipinin belirlenmesinde kullanılan 0-9 skalası

0	Hastalık belirtisi yok
1	Küçük klorotik ve nekrotik lekeler
2	Sporulasyon olmaksızın klorotik ve nekrotik lekeler var
3–4	Sporulasyonla sınırlı klorotik ve nekrotik bölgeler
5–6	Orta derecede sporulasyonla birlikte klorotik ve nekrotik bölgeler
7	Orta derecede kloroz ile yoğun sporulasyon
8–9	Gözle görülebilir kloroz ve nekroz yok, çok sayıda ve yoğun sporulasyon mevcut.

Enfeksiyon tip verileri avirülens/virülens tarzlarını belirlemek için avirülens/virülens verisine çevrilmiştir. Bir izolat belli bir ayırıcı set hattı üzerinde 1-6 arası IT verdiğiğinde avirülens 7-9 IT verdiğiğinde virulent sayılmıştır (Chen vd. 2002; Cheng ve Chen 2014; Wan vd. 2016). Ayırıcı hatlar inoküle edildikten sonra bir izolatın kalan üredosporları 4 °C’de bir desikatör içinde 4 °C’de kısa dönemliğine (4 aya kadar) veya sıvı nitrojen içinde uzun dönem muhafaza etmeden önce bir kaç gün tutulmuştur. (Wan ve Chen 2014; Wan vd. 2016).



Şekil 3.8. Enfeksiyon tipine ait görsel (Hovmöller vd. 2017b).

3.2.2.1. Virülens testi sonuçlarının değerlendirilmesi

Virülens testi sonuçlarına göre Çizelge 3.2’de belirtilen ırk ayırıcı sette yer alan dayanıklılık genleri üzerinde virulent/avirulent reaksiyon verenler var/yok (1-0) şeklinde skorlanmıştır. Skorlanan veriler PAST sürüm 3.0 (Hammer vd. 2001) programında Euclidian benzerlik katsayısına göre hesaplanmış ve bu katsayıya göre dendogram oluşturulmuştur. Daha sonra oluşturulan bu dendogram FigTree sürüm 1.4.4 (Rambaut 2018) programında düzenlenmiştir.

3.2.3. Moleküler çalışmalar

3.2.3.1. DNA izolasyonu

Hassas çeşit “Morocco” üzerinde çoğaltılan taze sarı pas sporlarından (üredespor) DNA izolasyonu NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel) kiti kullanılarak aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir:

1. 50-200 mg sarı pas sporu üzerine 150 mg Sea Sand (Deniz kumu) eklenmiştir.
2. Üzerine 200 µl PL1 lisis buffer eklenmiş ve steril pistil ile iyice ezilmiştir. Ezme işlemi esnasında arada örneklerin iyice karışması için vortekslenmiştir. Daha sonra 200 µl daha PL1 buffer eklenerek ezme işlemine devam edilmiştir. Ezme işleminin ardından örnekler üzerine 10 µl RNAaz eklenerek vortekslenmiştir.
3. Örnekler 30 dk 65 °C’de inkübasyona bırakılmıştır.
4. Inkübasyondan çıkan örnekler üzerine 100 µl kloroform eklenerek 10 sn vortekslenmiş ve daha sonra örnekler 20 dakika 12000 rpm de santrifüj edilmiştir.
5. Santrifüjden sonra üst fazdaki süpernatant çekilmiştir.
6. Çekilen süpernatant, toplama tüp üzerindeki mor filtreye dökülmüş ve 2 dk 12000 rpm de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj ardından filtre atılmıştır.

7. Toplama tüp içindeki sıvı eppendorfa aktarılmış ve üzerine 590 µl PC buffer eklenerek iyice vortekslenmiştir.
8. Toplama tüp üzerine yeşil filtre takılmış ve PC buffer ile iyice karıştırdığın sıvıdan 700 µl çekilmiş ve filtreye aktarılmıştır. Ardından tüpler 1 dakika 12000 rpm de santrifüj yapılmış ve alttaki sıvı boşaltılmıştır.
9. Filtrenin üzerine 400 µl PW1 buffer eklenerek 2 dakika 12000 rpm de santrifüj yapılmış ve alttaki sıvı boşaltılmıştır.
10. Filtre üzerine 700 µl PW2 buffer eklenerek 2 dakika 12000 rpm de santrifüj yapılmıştır.
11. Filtre üzerine 200 µl PW2 buffer eklenerek 2 dakika 12000 rpm de santrifüj yapılmıştır.
12. Önceden 65 °C’de ısıtılan TE buffer dan 50 µl 1 yeşil filtreye aktarılmış ve 5 dakika 65 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Ardından örnekler 1 dakika 12000 rpm de santrifüj edilmiştir
13. Bir önceki aşamada ki işlem tekrar edilmiş ve 100 µl DNA elde edilmiştir.

3.2.3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

PZR çalışmalarında ilk olarak SSR primerlerinin daha önce kaynaklarda belirlenen bağlanma sıcaklıkları uygulanarak PZR çalışmaları yapılmıştır. Yapılan ön çalışmalarda SSR primerleri için genel olarak kaynaklarda belirtilen sıcaklık değerleri uygun olduğu belirlenmiştir. Bağlanma sıcaklığı uygun olmayan RJ21 ve PstP031 SSR primerleri için Çizelge 3.6’de belirtilen miktarlar ve Çizelge 3.7’de belirtilen şekilde programlanarak gradient PZR yapılmıştır. Kaynaklarda belirtilen büyüklükte bant değeri ve parlak bant elde edilen bağlanma sıcaklığı (annealing) bu belirtilen iki SSR primeri için değiştirilmiştir (Çizelge 3.5). Çalışmada kullanılan sarı pas etmeni *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*) özgülü 21 adet SSR primerleri Çizelge 3.5’de belirtilmiştir.

PZR reaksiyonu örnek başına 12 µl hacimde olacak şekilde hazırlanmıştır (Çizelge 3.6). Çalışılan örnek sayısı ile orantılı olacak şekilde steril 1.5 ml’lik ependorf tüpler içinde her bir örnek için 11 µl PZR karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan bu PZR karışımı her biri 8’li steril PZR tüplerine aktarılmış ve üzerine 1 µl hedef DNA eklenmiştir. Daha sonra bu tüpler 5-10 sn mikrosantrifüjde 3.200 rpm’de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj edilen tüpler PZR cihazına (BIO-RAD T100 thermal cycler) yerleştirilmiş ve her bir SSR primeri için Çizelge 3.5’de belirtilen bağlanma sıcaklığı değerleri dikkate alınarak programlanmıştır (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan *Pst*'ye özgü SSR primerleri

Primer	Baz dizisi (5'-3')	Beklenen bant büyüklüğü (bp)	Bağlanma sıcaklığı	Kaynak
RJ8N	F: ACTGGGCAGACTGGTCAAC R: TCGTTTCCCTCCAGATGGC	224	52 °C	Bahri vd. 2009
RJ18	F: CTGCCCATGCTCTTCGTC R: GATGAAGTGGGTGCTGCTG	358	52 °C	
RJ20	F: AGAAGATCGACGCACCCG R: CCTCCGATTGGCTTAGGC	294	52 °C	Enjalbert vd. 2002
RJ21	F: TTCCTGGATTGAATTCGTCG R: AGTTCTCACTCGGACCCAG	170	53 °C	
CPS02	F: GTTGGCTACGAGTGGTCATC R: TAACACTACACAAAAGGGGTC	105-117	58 °C	
CPS04	F: GGGAAGCACAGAACGGTC R: AGGGTGGTGTGCTAGTTGG	252-258	58 °C	Chen vd. 2009
CPS08	F: GATAAGAAACAAGGGACAGC R: CAGTGAACCCAATTACTCAG	196- 216	55 °C	
CPS13	F: TCCAGGCAGTAAATCAGACGC R: ATCAGCAGGTGTAGCCCCATC	127-130	58 °C	
PstP001	F: ACCATCGGATTCCTGC R: ACGGTAGGCGAACGAC	355- 360	49 °C	
PstP002	F: CTGACCATCGGATTCCTGC R: TGAACGGTAGGCGAACGAC	361-367	53 °C	
PstP003	F: TAACCCACGGCAACTCA R: ATCGTTGGCAGCCTTACC	224-241	50 °C	Cheng vd. 2012
PstP004	F: TCTCGCCTCGCTTGAATG R: TCGCTGGAGTTGGATGGA	500-503	50 °C	
PstP005	F: CCAACAGGCTCAAACCTACCA R: TCCGCTTCGATCATAGCAC	319-326	52 °C	
PstP006	F: GTTTGATTTTCCCTATGC R: AACTGAACGGAAGATGC	243-246	45 °C	
PstP007	F: GATTTGCGAGGTCACCTT R: TGGTTGTGATAACGATGA	306-312	46 °C	
PstP008	F: CCCTTGAGTAGTATGACC R: AGAAGAGGACGAGAAGAT	454-457	48 °C	
PstP025	F: ATGTAAATGTAGCACCAAAC R: TCATGCTCGGTATGTCTC	358-364-385	48 °C	
PstP029	F: ACAATCCTCAAGGTGGTG R: GTTCGCTTTGTTGGTTAT	191-195-205	48 °C	
PstP030	F: AAGGAAAAGAACTGTATG R: TTCAGATGCTCTATTCAA	304-315	50 °C	
PstP031	F: TTGGGCGTCCTGGCATTG R: ACCCGTTCCTTCTTGGTCTTGC	277-281	57 °C	
PstP033	F: ACAGAAGGAAGGCAGATT R: GGGGTTTGATGTTATTAC	433-446-451	46 °C	

Çizelge 3.6. SSR primerlerine ait PZR içeriği ve miktarları

PZR içeriği	Miktar
PZR buffer (1X)	1.2 µl
MgCl ₂ (1.5 mM)	0.72 µl
dNTP (0.2 mM)	0.09 µl
İleri (forward) primer (10 µM)	1.2 µl
Geri (reverse) primer (10 µM)	1.2 µl
Taq DNA polimeraz(5u/µl)	0.2 µl
genomik DNA (100 ng/µl)	1 µl
ddH ₂ O	6.39 µl

Çizelge 3.7. SSR primerlerine ait PZR protokolü

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı	Aşama
94 °C	5 dakika	1	Ön denaturasyon
94 °C	30 saniye	35	Denaturasyon
41-58 °C	30 saniye		Primer bağlanması
72 °C	30 saniye		Uzama
72 °C	10 dakika	1	Son uzama

3.2.3.3. Agaroz jellerin hazırlanışı

3 g agaroz tartılıp 100 ml'lik beher içerisine koyulmuş ve üzerine 100 ml 1X TBE tampon çözeltisi (10.8 g Tris, 5.5 g Borik asit ve 4 ml 0.5 M EDTA) eklenerek hazırlanmıştır. Agarozun çözelti içerisinde dağılmasını sağlamak amacıyla 2-3 dakika çalkalanmış ve çözünmesi için mikrodalga fırında kaynatılmıştır. Mikrodalga fırından çıkarılan jel tampon çözeltisi üzerine 3 µl etidyum bromür eklenmiştir. Hazırlanan jel 8 x 20 x 0.8 cm boyutlarında ve 20 kuyucuklu tarak bulunan jel tablasına dökülmüş ve jelin katılaşması için soğumaya bırakılmıştır. Jel iyice katılaştıktan sonra tarak yavaşça çıkarılmış, 1X TBE tampon çözeltisi içeren yatay jel tankı içerisine koyulmuş ve üzerini kaplayacak şekilde 1X TBE tampon çözeltisi ilave edilmiştir.

3.2.3.4. PZR ürünlerinin jele yüklenmesi ve agaroz jel elektroforez

PZR analizi sonucu elde edilen 12 µl'lik ürünler, 2 µl 6x yükleme boyası (loading dye) ile boyanarak 3 µl etidyum bromür (10 mg etidyum bromid/ml dH₂O) içeren %3'lük agaroz jele yüklenmiştir. Agaroz jel elektroforezde PZR ürünleri arasındaki farklılığın ortaya konması için, örnekler 120 ile 160 dakika arasında değişen sürelerde 80 voltta koşturulmuştur. Koşan örnekler UV ışık altında UVP UVsolo touch cihazında görüntülenmiştir. PZR'da çoğaltılan ürünleri karşılaştırmak için daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen bant büyüklükleri dikkate alınarak çalışmada 50 bp'lik DNA markörü (Thermo Scientific GeneRuler®) kullanılmıştır.

3.2.4. Moleküler verilerin analizi

Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan sarı pas izolatları kontrol olarak kullanılan 2008, 2011, 2012 ve 2017 yıllarına ait sarı pas izolatları arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesinde Nei'nin genetik mesafe (D) değeri kullanılmıştır (Nei, 1972). Çalışmada mikrosatelit (SSR) analizlerinden elde edilen moleküler verilerle; varyans analizi (AMOVA), allel frekansları, allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), Shannon indeksi (I), beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho), Göç eden birey sayısı (Nm) ve polimorfizm bilgi içeriği (PIC) gibi istatistiksel değerler hesaplanmıştır. *Pst* izolatlarının kümeleme analizinde ise temel koordinat analizi (PCoA) yöntemi uygulanmıştır.

3.2.4.1. Allel frekansları

Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ilk aşama çalışılan lokuslarda allel frekanslarının belirlenmesidir. Çalışmada allel frekansları GenAEx 6.2 (Peakall ve Smouse 2006) programında Nei (1987)'nin gen (allel) sayma (counting the number of gene) yöntemine göre hesaplanmıştır.

3.2.4.2. Allel sayısı (Na)

Çalışılacak olan lokuslardaki allel sayısı ile etkili allel sayısı genetik varyasyonun belirlenmesinde önemli bir kriterdir. Genetik varyasyonun ortaya konulabilmesi için bir lokusta allel sayısı ile etkili allel sayısının fazla olması beklenmektedir. Bu şekilde çalışılan popülasyonların birbirleri ile karşılaştırılabilmesi mümkündür. Çalışmada allel sayısının hesaplanmasında GenAEx 6.2 (Peakall ve Smouse 2006) programı kullanılmıştır.

3.2.4.3. Etkili allel sayısı (Ne)

Çalışılan lokusta belirlenen allellerin ne kadarının genetik varyasyona katkıda bulunduğunu belirlenmesinde kullanılan bir istatistiksel değerdir. Etkili allel sayısı (Ne) aşağıda belirtilen formül kullanılarak GenAEx 6.2 (Peakall ve Smouse 2006) programında hesaplanmıştır.

$Ne = 1/(\sum p_i^2)$ Ne: Etkin allel sayısı, $\sum p_i^2$: Toplam allel frekansının kareler ortalaması)

3.2.4.4. Shannon indeksi (I)

Popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan bir kriterdir. Çalışmada Shannon indeksi aşağıda belirtilen formül kullanılarak GenAlEx 6.2 (Peakall ve Smouse 2006) programında hesaplanmıştır.

$$I = -1 * \sum (p_i * \ln(p_i)) \quad I: \text{Shannon indeksi, } p_i: \text{allel frekansı}$$

3.2.4.5. Gözlenen heterozigotluk (Ho)

Genetik varyasyonun belirlenmesinde kullanılan bir ölçütdür. Gözlenen heterozigotluk GenAlEx 6.2 (Peakall ve Smouse 2006) programında aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$H_o = \text{Heterozigot birey sayısı} / \text{Toplam birey sayısı}$$

3.2.4.6. Beklenen heterozigotluk (He)

Genetik varyasyonun belirlenmesinde kullanılan bir ölçütdür. Beklenen heterozigotluk (He) değerinin hesaplanmasında aşağıda belirtilen formül kullanılarak GenAlEx 6.2 (Peakall ve Smouse 2006) programında hesaplanmıştır. Ayrıca gen frekansları kullanılarak yansız beklenen heterozigotluk (uHe) değerleride aynı programda aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$H_e = 1 - \sum p_i^2 \quad uHe: (2N/(2N-1)) * H_e$$

$$H_e: \text{Beklenen heterozigotluk} \quad uHe: \text{Yansız beklenen heterozigotluk}$$

p_i : Allel frekansı

$\sum p_i^2$: Toplam allel frekansının kareler ortalaması

N: Toplam örnek sayısı

3.2.4.7. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC)

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri bir markerın polimorfik bilgi üretip üretmediğinin belirlenmesinde kullanılan bir parametre olup çalışılan lokuslar hakkında varyasyonun belirlenmesinde kullanılan bir katsayıdır. PIC değerinin 0.5' den yüksek olması istenir. Çalışmada PIC değerinin hesaplanmasında Powermarker (Liu ve Muse 2005) paket programı kullanılmıştır.

3.2.4.8. Göç eden birey sayısı (Nm)

Çalışmada kullanılan popülasyonlar arasında farklılıkların belirlenmesinde popülasyonlar arasında göç olup olmadığı önemlidir. Bu sebeple her generasyon göç eden bireylerin sayısı gen akışını belirlemektedir. Diğer bir ifadeyle, popülasyon

içerisindeki izolatın diğer bir popülasyona genetik olarak katkı sağlamasıdır. Nm değerinin hesaplanmasında iki farklı yöntem bulunmaktadır. İlk yöntem özgün allel sayısının frekansından diğer yöntem ise *Fst* değerine göre hesaplanmaktadır. Çalışmada Nm değeri aşağıda belirtilen formül kullanılarak Arlequin sürüm 3.11 (Excoffier vd. 2006) programında hesaplanmıştır.

$$Nm = 0.25 * (1 - Fst) / Fst$$

3.2.4.9. Genetik mesafe değerleri

Çalışılan popülasyonlar arasındaki genetik benzerlik (genetic identity) değerinin belirlenmesinde allel frekansları kullanılmaktadır. Genetik uzaklık (genetic distance) değerinde genetik benzerlik değerine göre hesaplanmaktadır. Çalışmada bu iki parametre Nei (1972) yöntemine göre Popgene sürüm 1.31 (Yeh vd. 1997) programı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.4.10. Moleküler varyans analizi (AMOVA)

Moleküler varyans analizi (AMOVA) yapılarak izolatlar arasındaki farklılık, popülasyonlar arasındaki farklılık ve popülasyon içindeki izolatlar arasındaki farklılık değerlerinin hesaplanarak genetik varyasyonun belirlenmesinde kullanılan bir istatistiksel analiz yöntemidir. Çalışmada AMOVA analizi Arlequin sürüm 3.11 (Excoffier vd. 2006) programı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.4.11. Temel koordinat analizi (PCoA)

Çalışmadaki sarı pas izolatları arasındaki genetik varyasyonu belirlemek için Temel Koordinat Analizi (PCoA) GenAlEx 6.2 (Peakall ve Smouse 2006) programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Sarı Pas Enfekteli Bitkilerin Toplanması

Yürütülen arazi çalışmalarının sonuçlarına göre 17 ekmeklik (*Triticum aestivum* L.), 7 makarnalık (*Triticum durum*) ve 4 tritikale (*xTritico secale*)'den olmak üzere toplam 28 sarı pas izolatu toplanmıştır. Toplanan izolatların alındığı il, ilçe, bitkinin durumu, çeşit, enfeksiyon yüzdesi (EY), enfeksiyon katsayısı (EK) ve bitkideki hastalık reaksiyonuna ilişkin arazide yapılan gözlemlere ait veriler Çizelge 4.1'de belirtilmiştir. Yapılan arazi çalışmalarında örnekleme yapılan tarlaların etrafında pisipisi otu olarak bilinen *Hordeum murinum*' un sarı pas ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1a). Bu tür hastalık etmeninin yayılmasına neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca arazi çalışmalarında buğday ve çavdar melezi olan tritikale bitkisinde de yoğun şekilde sarı pas enfeksiyonu tespit edilmiştir (Şekil 4.1b).



(a)



(b)

Şekil 4.1 (a) *Hordeum murinum*'da sarı pas enfeksiyonu; **(b)** Tritikale'de sarı pas enfeksiyonu

Çizelge 4.1. Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan sarı pas izolatlarına ilişkin bilgiler

İzolat No	İl	İlçe	Durum	Çeşit	EY %	Reaksiyon	EK %
TRYR1	Adana	Sarıçam	Süt Olum	Ekmeklik buğday	90	MS	72
TRYR2	Mersin	Tarsus	Süt Olum	Ekmeklik buğday	40	MS	32
TRYR3	Antalya	Manavgat	Süt Olum	Tritikale	100	S	100
TRYR4	Antalya	Serik	Süt Olum	Tritikale	100	S	100
TRYR5	Antalya	Döşemealtı	Süt Olum	Ekmeklik buğday	100	S	100
TRYR6	Kahramanmaraş	Onikişubat	Süt Olum	Ekmeklik buğday	90	S	90
TRYR7	Antalya	Kemer	Süt Olum	Ekmeklik buğday	80	S	80
TRYR8	Antalya	Demre	Süt Olum	Makarnalık buğday	90	S	90
TRYR9	Isparta	Merkez	Süt Olum	Makarnalık buğday	40	S	40
TRYR10	Burdur	Bucak	Süt Olum	Makarnalık buğday	40	MS	32
TRYR11	Antalya	Elmalı	Süt Olum	Makarnalık buğday	100	S	100
TRYR12	Afyonkarahisar	Merkez	Süt Olum	Ekmeklik buğday	40	MS	32
TRYR13	Denizli	Acıpayam	Süt Olum	Ekmeklik buğday	50	MS	40
TRYR14	Burdur	Merkez	Süt Olum	Ekmeklik buğday	30	MS	24
TRYR15	Isparta	Yalvaç	Süt Olum	Ekmeklik buğday	40	MR	16
TRYR16	Hatay	Dört Yol	Süt Olum	Ekmeklik buğday	80	MS	64
TRYR17	Mersin	Çamlıyayla	Süt Olum	Ekmeklik buğday	70	MS	56
TRYR18	Muğla	Menteşe	Süt Olum	Ekmeklik buğday	40	S	40
TRYR19	Denizli	Pamukkale	Süt Olum	Makarnalık buğday	60	MS	48
TRYR20	Manisa	Salihli	Süt Olum	Ekmeklik buğday	10	MS	8
TRYR21	Aydın	Germencik	Süt Olum	Ekmeklik buğday	100	S	100
TRYR22	İzmir	Torbalı	Süt Olum	Ekmeklik buğday	90	S	90
TRYR23	İzmir	Menemen	Süt Olum	Tritikale	100	S	100
TRYR24	Manisa	Sarıgöl	Süt Olum	Ekmeklik buğday	60	MS	48
TRYR25	Muğla	Fethiye	Sarı olum	Tritikale	90	S	90
TRYR26	Uşak	Merkez	Süt Olum	Makarnalık buğday	60	MS	48
TRYR27	Afyonkarahisar	Dinar	Süt olum	Ekmeklik buğday	30	MS	24
TRYR28	Kütahya	Merkez	Süt Olum	Makarnalık buğday	70	S	70

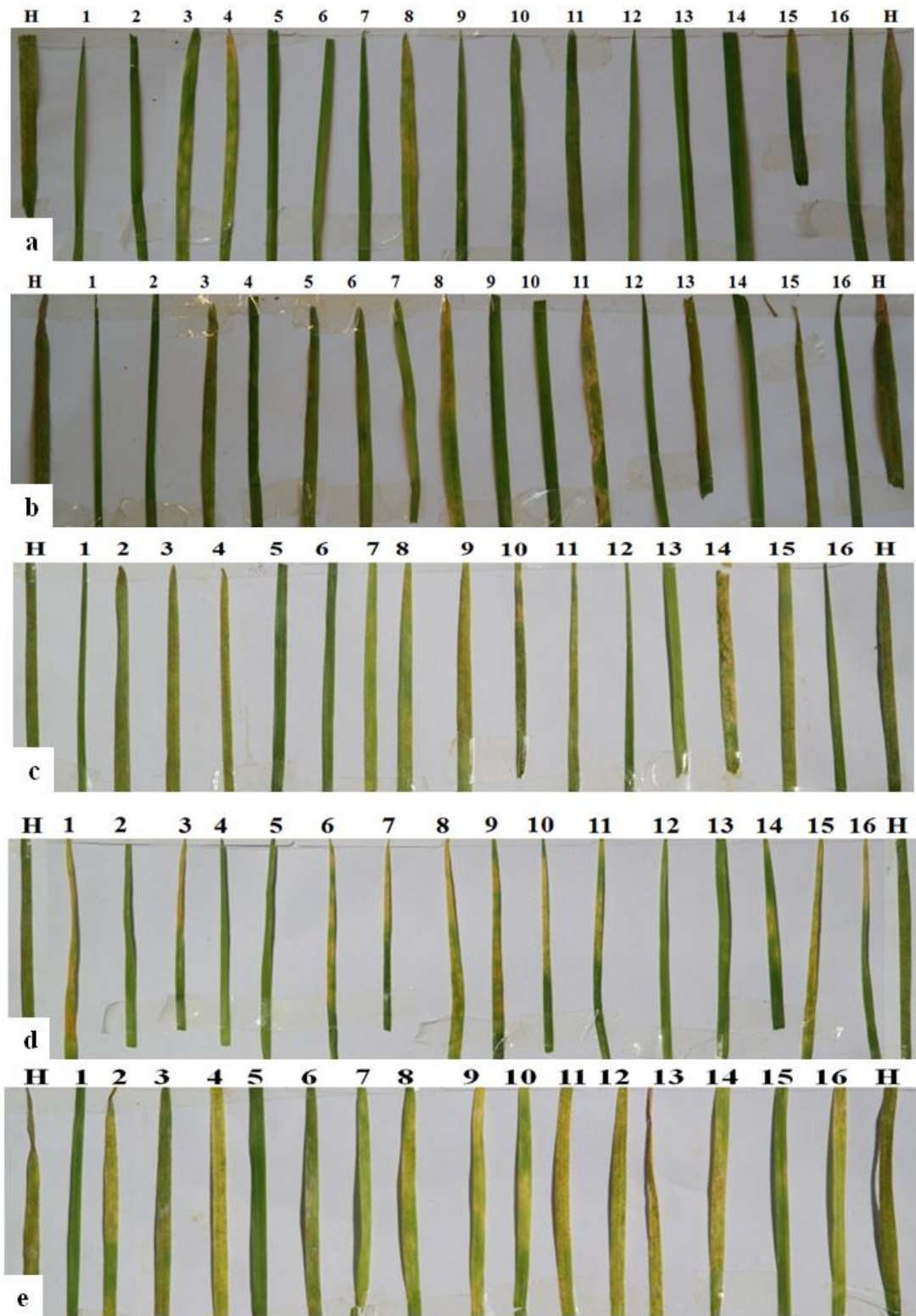
4.2. *Pst* İzolatlarının Virülens Tanılanması

Bu çalışmada Akdeniz bölgesinden 15 *Pst* izolatı, Ege bölgesinden 13 *Pst* izolatının virülens testlemesi yapılmıştır. Kontrol olarak kullanılan ve virülens fenotipi bilinen Güneydoğu Anadolu bölgesinden (TRYR43, TRYR44), İç Anadolu bölgesinden (TRYR56) ve Trakya'dan (TRYR35) izolatları olmak üzere toplam 32 *Pst* izolatının 16 Yr dayanıklılık genlerine karşı virülens fenotipleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Çalışmada 32 *Pst* izolatının virülens testi sonuçları

İzolat	Yr1	Yr5	Yr6	Yr7	Yr8	Yr9	Yr10	Yr15	Yr17	Yr24	Yr27	Yr32	Yr43	Yr44	YrSP	YrTr1	AvS
TRYR1	V	A	V	A	A	V	V	A	V	A	A	A	A	A	A	A	V
TRYR2	A	A	V	V	A	V	A	A	A	A	V	V	V	V	A	A	V
TRYR3	A	A	V	A	V	V	A	A	A	A	A	A	V	A	V	A	V
TRYR4	A	A	V	A	V	V	A	A	A	A	A	A	V	A	V	A	V
TRYR5	A	A	V	A	V	V	A	A	A	A	A	A	V	A	V	A	V
TRYR6	V	A	V	A	V	V	V	A	A	A	A	A	A	A	V	A	V
TRYR7	A	A	V	A	V	V	A	A	A	A	A	A	V	A	V	A	V
TRYR8	A	A	V	A	V	V	A	A	A	A	V	A	V	A	V	A	V
TRYR9	A	A	V	V	A	A	A	A	V	V	V	A	A	V	V	A	V
TRYR10	V	A	V	V	A	V	A	A	V	A	A	V	V	A	V	V	V
TRYR11	V	A	V	V	A	V	A	A	V	A	A	V	V	A	V	A	V
TRYR12	A	A	V	V	A	V	V	A	A	A	A	A	V	A	A	A	V
TRYR13	V	A	V	V	A	V	A	A	V	A	V	A	A	A	A	A	V
TRYR14	V	A	V	V	A	V	A	A	V	A	A	V	V	A	V	A	V
TRYR15	V	A	V	V	A	V	A	A	V	A	A	V	V	A	V	V	V
TRYR16	A	A	V	V	V	V	A	A	V	V	A	A	A	A	A	A	V
TRYR17	A	A	V	V	V	V	V	A	A	V	A	A	A	A	A	A	V
TRYR18	V	A	V	V	A	A	A	A	A	A	V	A	V	A	A	A	V
TRYR19	V	A	V	V	A	A	V	A	A	V	V	A	V	A	A	A	V
TRYR20	V	A	V	V	A	A	V	A	A	V	A	A	V	A	A	A	V
TRYR21	V	A	V	V	A	V	A	A	V	A	A	V	V	A	V	A	V
TRYR22	V	A	V	V	V	V	A	A	A	A	V	A	A	A	A	A	V
TRYR23	A	A	V	V	V	V	A	A	A	V	A	A	A	A	A	A	V
TRYR24	A	A	V	V	A	V	A	A	V	A	A	A	A	A	A	A	V
TRYR25	V	A	V	V	V	A	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	V
TRYR26	V	A	V	V	V	V	A	A	V	A	A	V	A	A	A	A	V
TRYR27	V	A	V	V	A	V	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	V
TRYR28	A	A	V	V	V	V	A	A	A	V	A	A	A	A	A	A	V
TRYR35	V	A	V	V	A	V	A	A	V	A	V	A	A	A	V	A	V
TRYR43	A	A	V	V	V	V	A	A	A	A	V	A	A	A	A	A	V
TRYR44	A	A	V	V	V	V	A	A	A	A	V	A	A	A	A	A	V
TRYR56	A	A	V	V	V	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	V

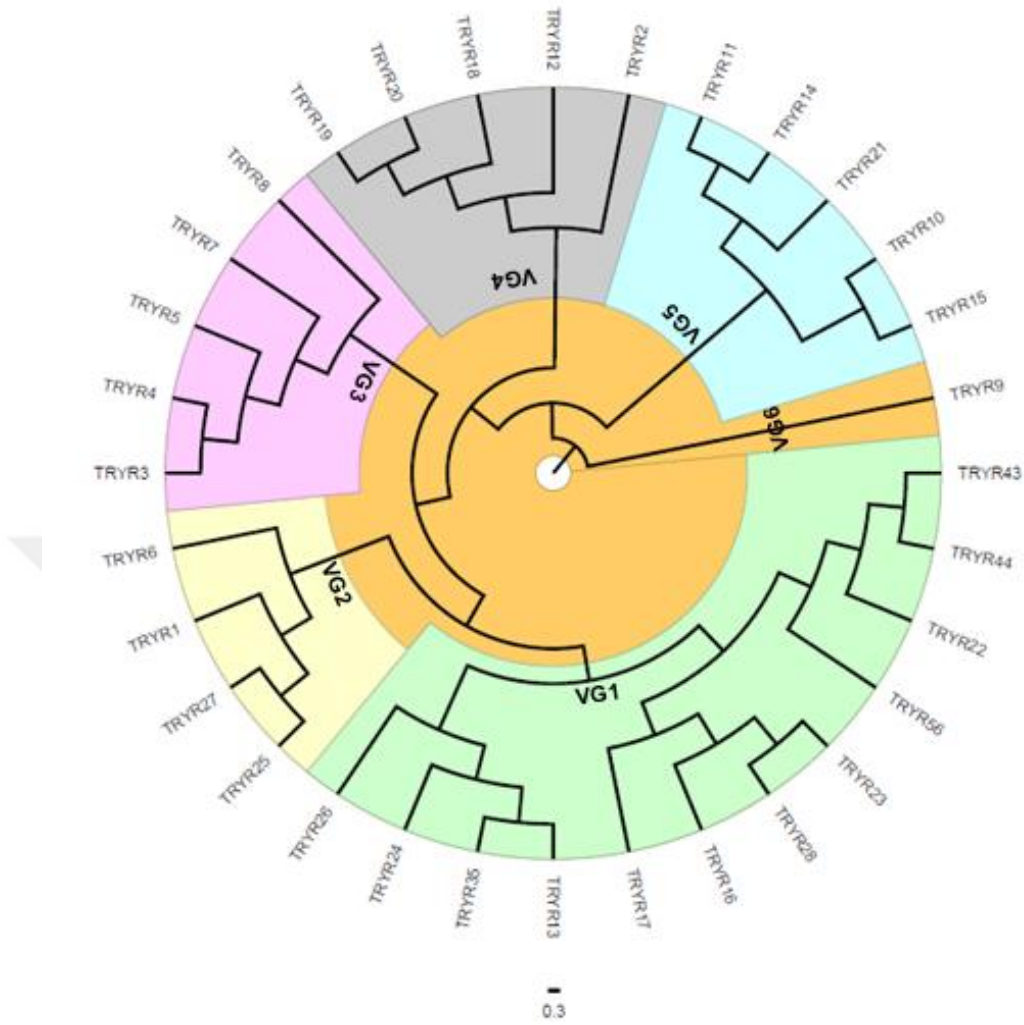
*Enfeksiyon tipi 1-6 olanlar avirulent (A); 7-9 olanlar virulent (V) olarak skorlanmıştır.



Şekil 4.2. Çalışmada bazı *Pst* izolatlarının virülens testi sonuçlarına ait görseller (a) TRYR11; (b) TRYR9; (c) TRYR21; (d) TRYR1 ve (e) TRYR2

Çalışmada *Pst* izolatlarının virülens testi sonuçlarına ait görseller Şekil 4.2’de verilmiştir. Yapılan virülens testlemesi sonucunda elde edilen veriler virülens/avirülens (V/A) şeklinde skorlanmıştır (Çizelge 4.2). Bu veriler 1-0 şekline dönüştürülmüş ve PAST sürüm 3.0 (Hammer vd. 2001) programında UPGMA yöntemine göre izolatlar arasındaki benzerlik Euclidean katsayısı kullanılarak belirlenmiştir. Belirlenen benzerlik katsayısına göre FigTree sürüm 1.4.4. (Rambaut 2018) programında dendogram oluşturulmuştur (Şekil 4.2). Oluşturulan bu dendogram göre; test edilen 32 *Pst* izolatı 6 virülens grupta (VG) kümelenmiştir (Şekil 4.3). VG1 içerisinde TRYR13, TRYR16, TRYR17, TRYR22, TRYR23, TRYR24, TRYR26, TRYR28, TRYR35, TRYR43, TRYR44 ve TRYR56; VG2 içerisinde TRYR1, TRYR6, TRYR25 ve TRYR27; VG3 içerisinde TRYR3, TRYR4, TRYR5, TRYR7 ve TRYR8; VG4 içerisinde TRYR2, TRYR12, TRYR18, TRYR19 ve TRYR20; VG5 içerisinde TRYR10, TRYR11, TRYR14, TRYR15 ve TRYR21; VG6 içerisinde TRYR9 *Pst* izolatları bulunmaktadır. Akdeniz bölgesinden toplanan 15 *Pst* izolatının dağılımı VG3 (5), VG5 (4), VG1 (2), VG2 (2), VG4 (1) ve VG6 (1); Ege bölgesinden toplanan 13 *Pst* izolatının dağılımı ise VG1 (6), VG4 (4), VG2 (2) ve VG5 (1) şeklindedir. VG3 ve VG6 içerisinde Ege bölgesine ait *Pst* izolatı bulunmamaktadır. Kontrol olarak kullanılan TRYR35, TRYR43, TRYR44 ve TRYR56 izolatları VG1 içinde kümelenmiştir. Çalışmada 32 *Pst* izolatının 12 tanesi (% 37.5) VG1 içerisinde toplanmıştır (Şekil 4.3).

Çizelge 4.2 incelendiğinde VG1 içerisindeki tüm izolatların *Yr6*, *Yr7* ve *Yr9* geni üzerinde virulent olduğu *Yr1*, *Yr8*, *Yr10*, *Yr17*, *Yr24*, *Yr27*, *Yr32*, *Yr43*, *YrSp* ve *YrTr1* genlerinde ise farklı virülenslik frekansına sahip oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.2). *Yr10* geninde sadece TRYR17 izolatının ve yine *YrTr1* geninde ise sadece TRYR13 izolatının virulent olduğu belirlenmiştir. VG2 içerisindeki tüm izolatların *Yr1*, *Yr6* ve *Yr10* genleri üzerinde virulent olduğu; *Yr8*, *Yr9*, *Yr17* ve *YrSp* genlerinde ise farklı frekansa sahiptirler. Diğer dayanıklılık genlerinin ise bu gruptaki izolatlar karşı etkili olduğu belirlenmiştir. VG3 içerisindeki tüm izolatlar karşı *Yr6*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr43* ve *YrSp* genlerinin dayanıklılık sağlamadığı ilave olarak TRYR8 izolatına karşı *Yr27* geninin dayanıklılık sağlamadığı belirlenmiştir. VG4 içerisindeki tüm izolatların *Yr6*, *Yr7* ve *Yr43* genleri üzerinde virulent olduğu, *Yr5* ve *Yr15* geni dışında diğer genlerde ise farklı virulent frekansına sahiptirler. Benzer şekilde VG5 içerisindeki tüm izolatlarda *Yr5* ve *Yr15* geni dışında diğer genlerde ise farklı virulent frekansına sahiptirler. 32 izolat içerisinde en fazla dayanıklılık geni üzerinde virulent olanlar dokuz dayanıklılık geni ile TRYR10 ve TRYR13 izolatlarıdır.

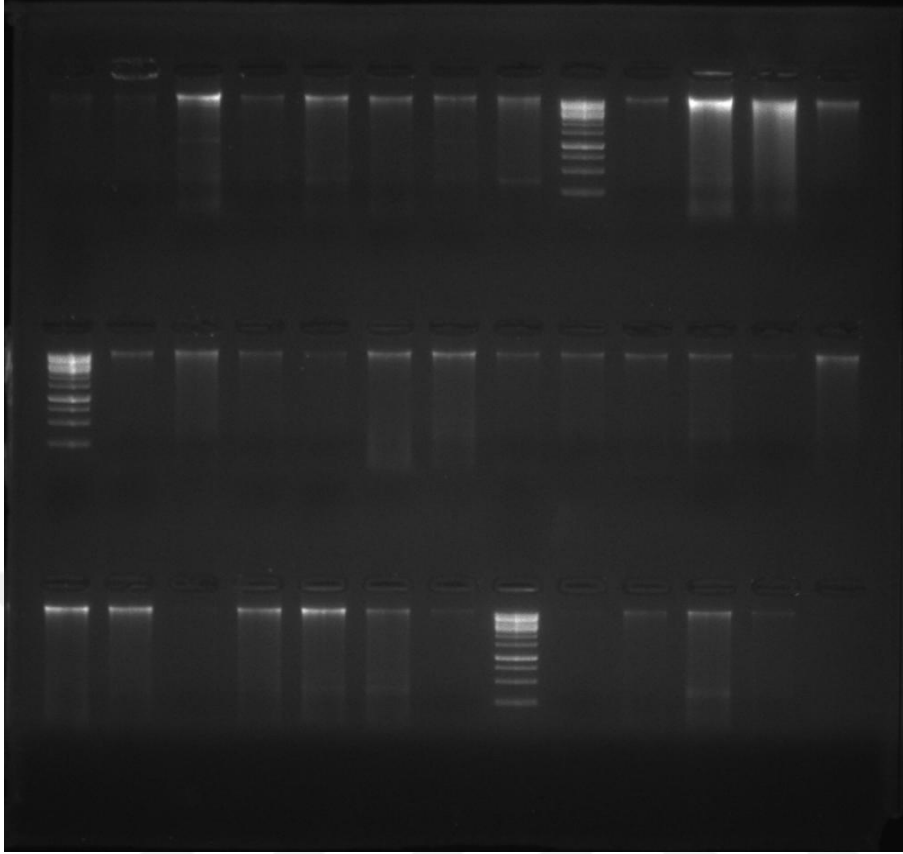


Şekil 4.3. Çalışmada 32 *Pst* izolatının virülens testlemesi sonucunda oluşturulan dendrogram

4.2. *Pst* İzolatlarının Moleküler Tanılanması

4.2.1. DNA izolasyonu

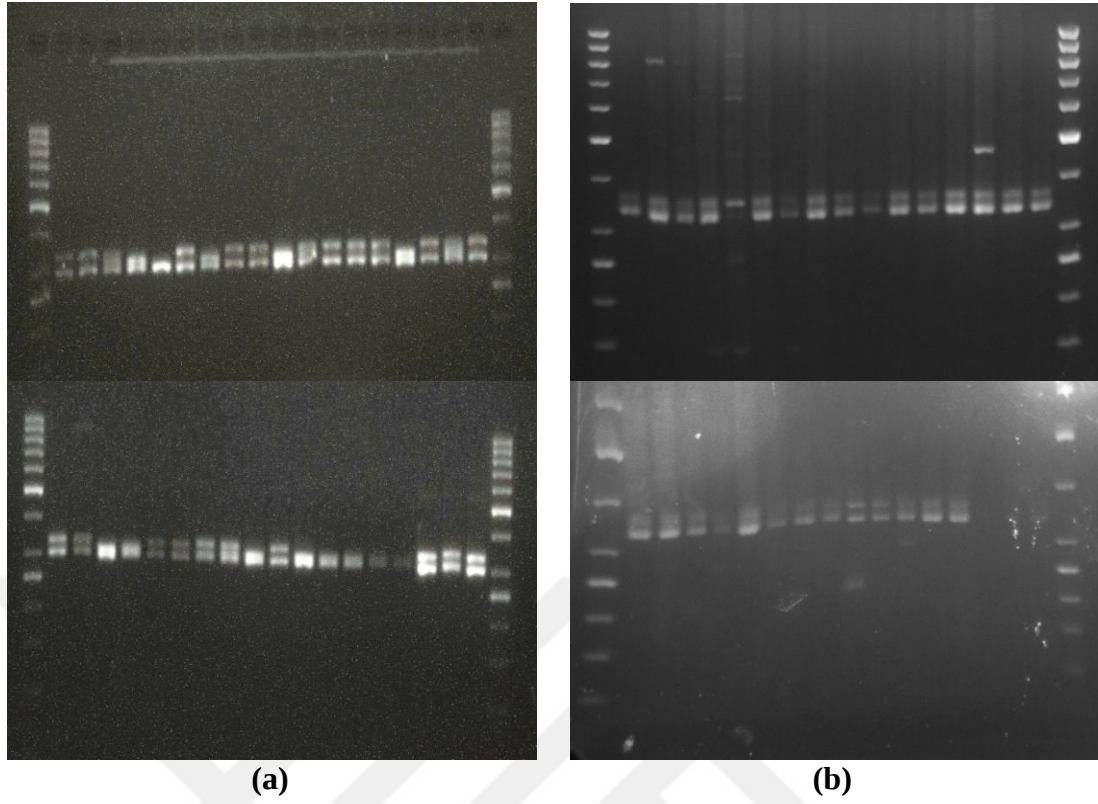
Çalışma kapsamında izole edilen sarı pas DNA'ların kaliteleri %1' lik agaroz jelde kontrol edilmiştir (Şekil 4.4).



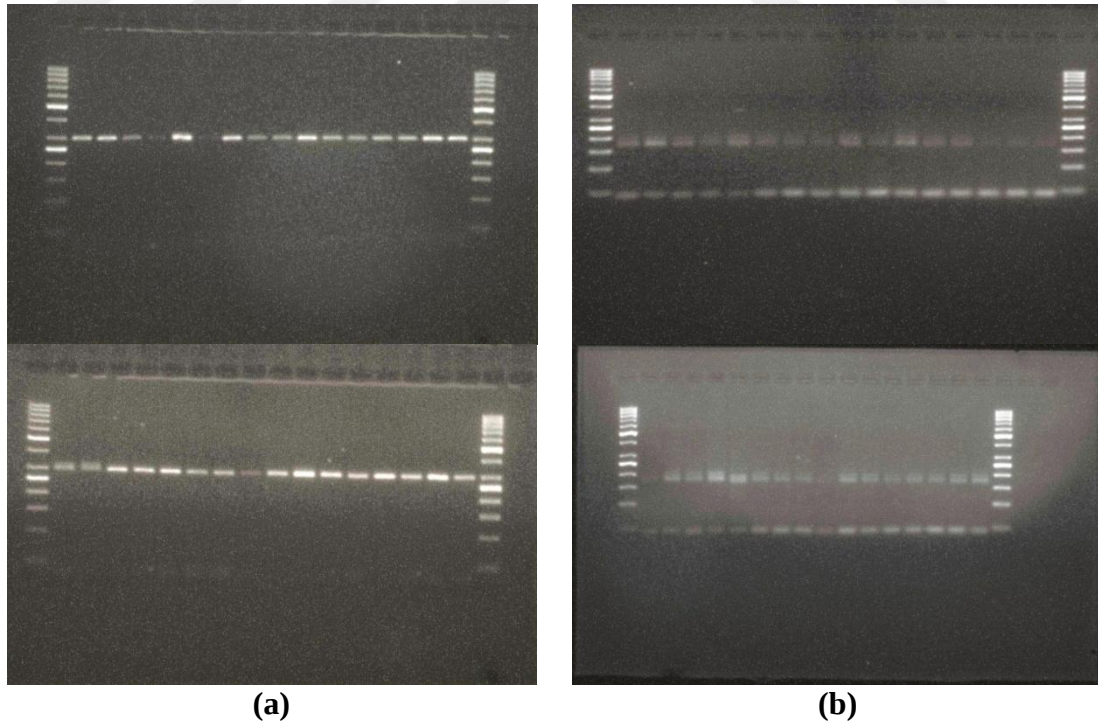
Şekil 4.4. SSR analizlerinde kullanılan sarı pas DNA'larına ait agaroz jel görüntüleri

4.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

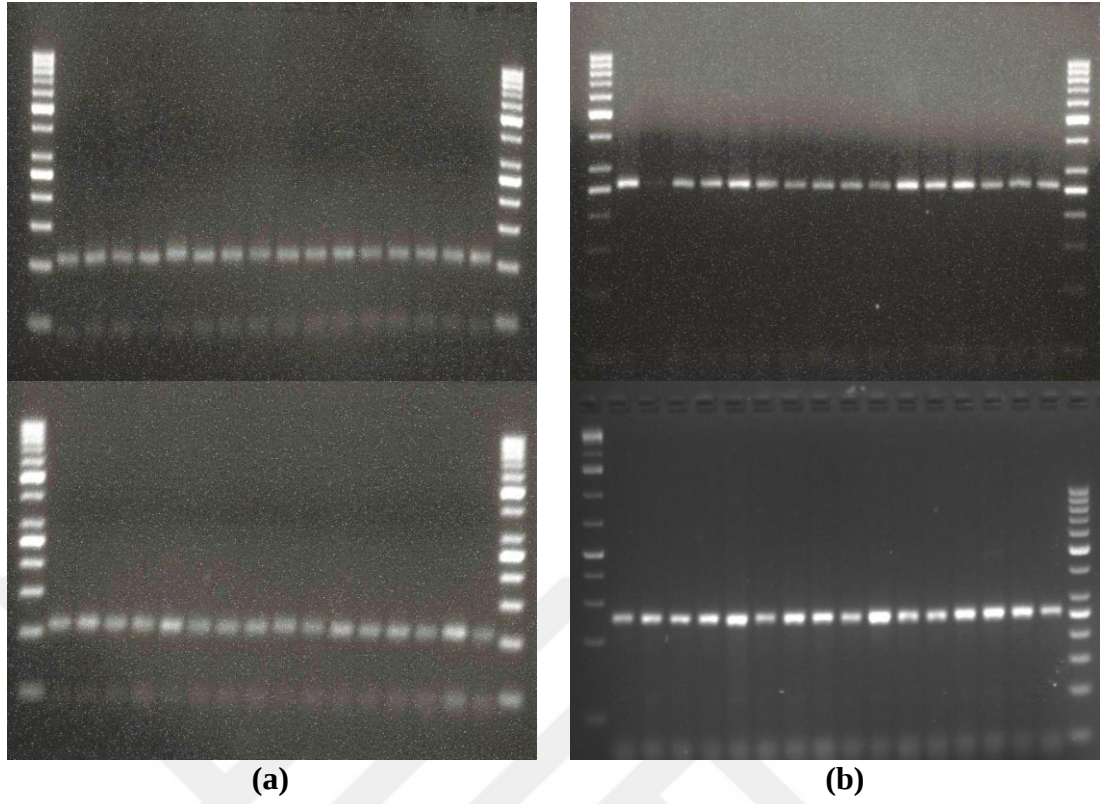
Çalışmada kapsamında 32 sarı pas izolatının (Akdeniz bölgesinden 15, Ege bölgesinden 13 ve kontrol olarak kullanılan 4 izolat) PZR'de çoğaltması sonucu elde edilen ürünlerin %3'lük agaroz jeldeki görüntüleri RJ8N (Şekil 4.5a), RJ18 (Şekil 4.5b), RJ20 (Şekil 4.6a), RJ21 (Şekil 4.6b), CPS02 (Şekil 4.7a), CPS04 (Şekil 4.7b), CPS08 (Şekil 4.8a), CPS13 (Şekil 4.8b), PstP001 (Şekil 4.9a), PstP002 (Şekil 4.9b), PstP003 (Şekil 4.10a), PstP004 (Şekil 4.10b), PstP005 (Şekil 4.11a), PstP006 (Şekil 4.11b), PstP007 (Şekil 4.12a), PstP008 (Şekil 4.12b), PstP025 (Şekil 4.13a) PstP029 (Şekil 4.13b), PstP030 (Şekil 4.14a), PstP031 (Şekil 4.14b) ve PstP033 (Şekil 4.15) belirtilmiştir. Agaroz jel görüntülerine göre RJ20, CPS02, CPS04, CPS13, PstP001, PstP004, PstP006, PstP007, PstP008, PstP029, PstP030 ve PstP031 SSR primerlerinde sarı pas izolatları arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir. Elde edilen sonuçlara göre çalışılan 12 SSR primerinde sadece tek bir allel çoğalttığı saptanmıştır. Bu yüzden çalışmada kullanılan sarı pas izolatları arasında bir varyasyon belirlenememiştir. RJ8N, RJ18, RJ21, CPS08, PstP002, PstP003, PstP005, PstP025 ve PstP031 SSR primerlerinde sarı pas izolatları arasında farklılık olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; PstP025 SSR primerinde sarı pas izolatlarında 3 allel, diğer kalan RJ8N, RJ18, RJ21, CPS08, PstP002, PstP003, PstP005 ve PstP031 SSR primerlerinde 2 allel görülmüştür.



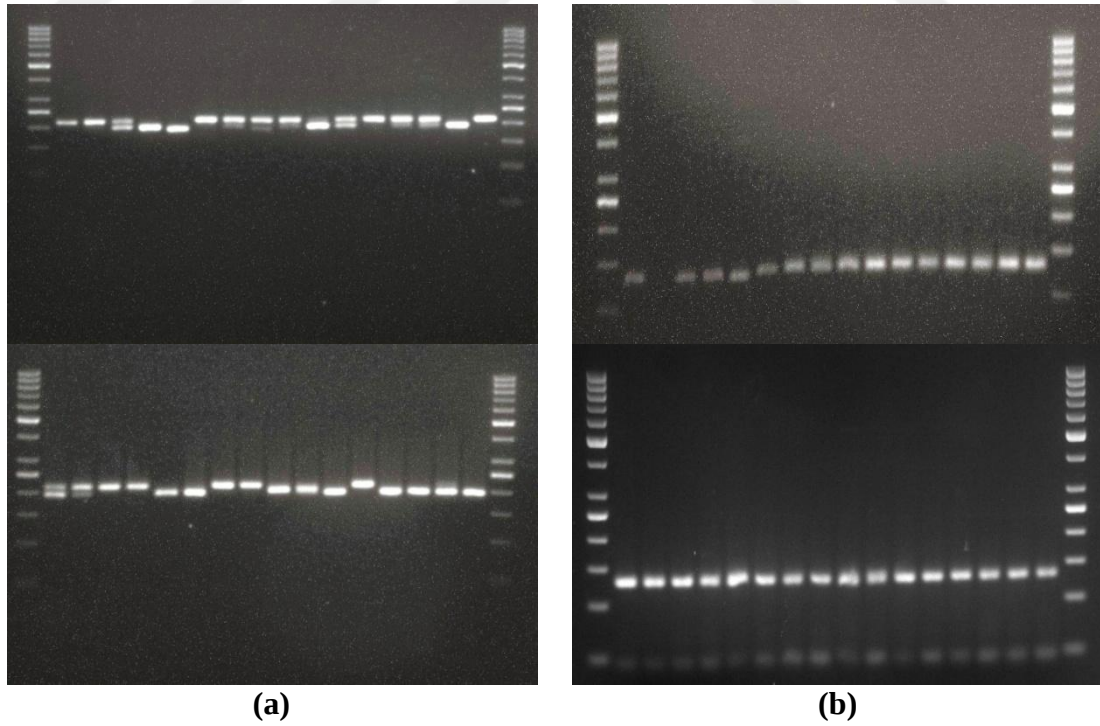
Şekil 4.5. (a) RJ8N SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** RJ18 SSR primerine ait jel görüntüsü



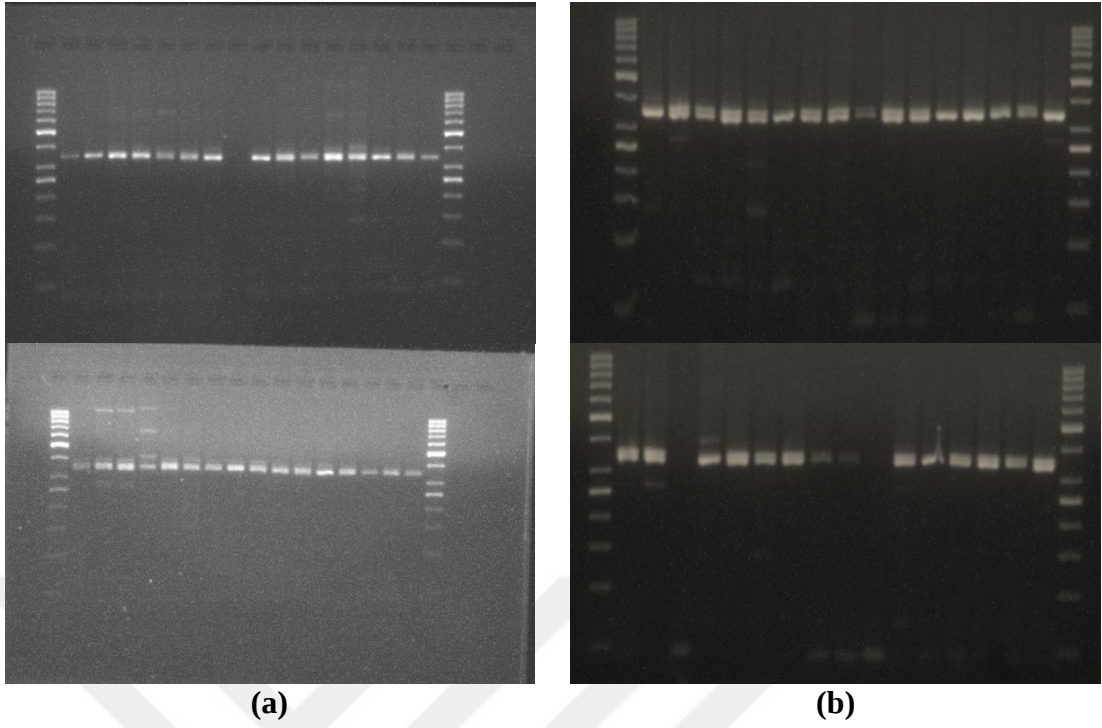
Şekil 4.6. (a) RJ20 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** RJ21 SSR primerine ait jel görüntüsü



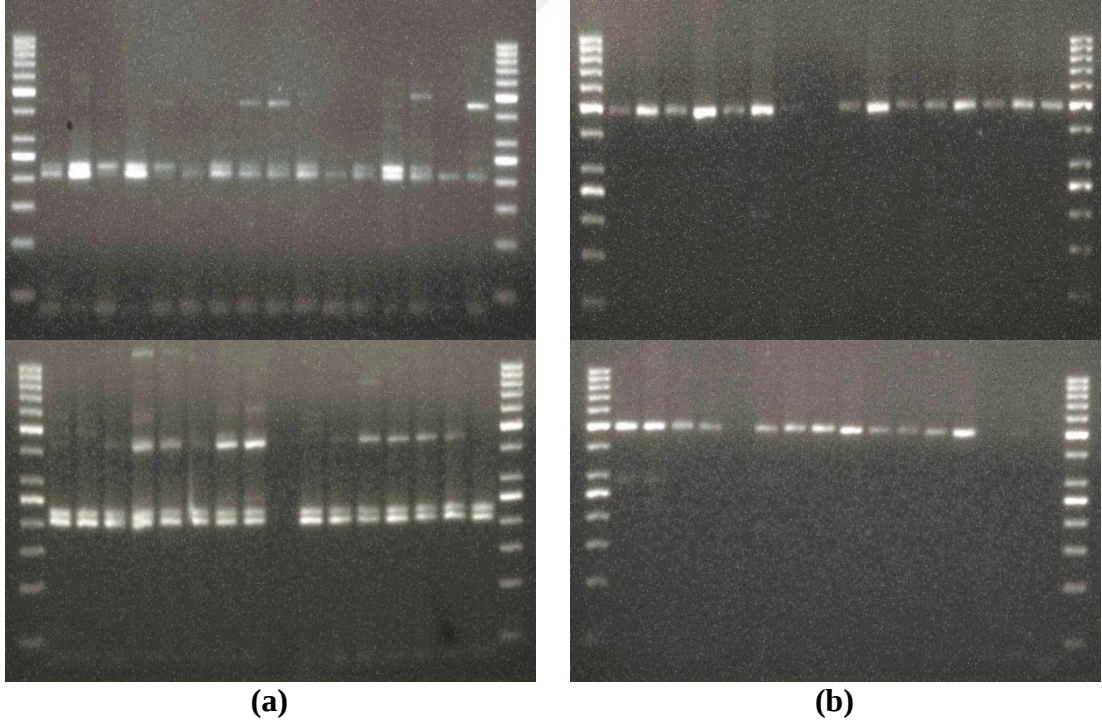
Şekil 4.7. (a) CPS02 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** CPS04 SSR primerine ait jel görüntüsü



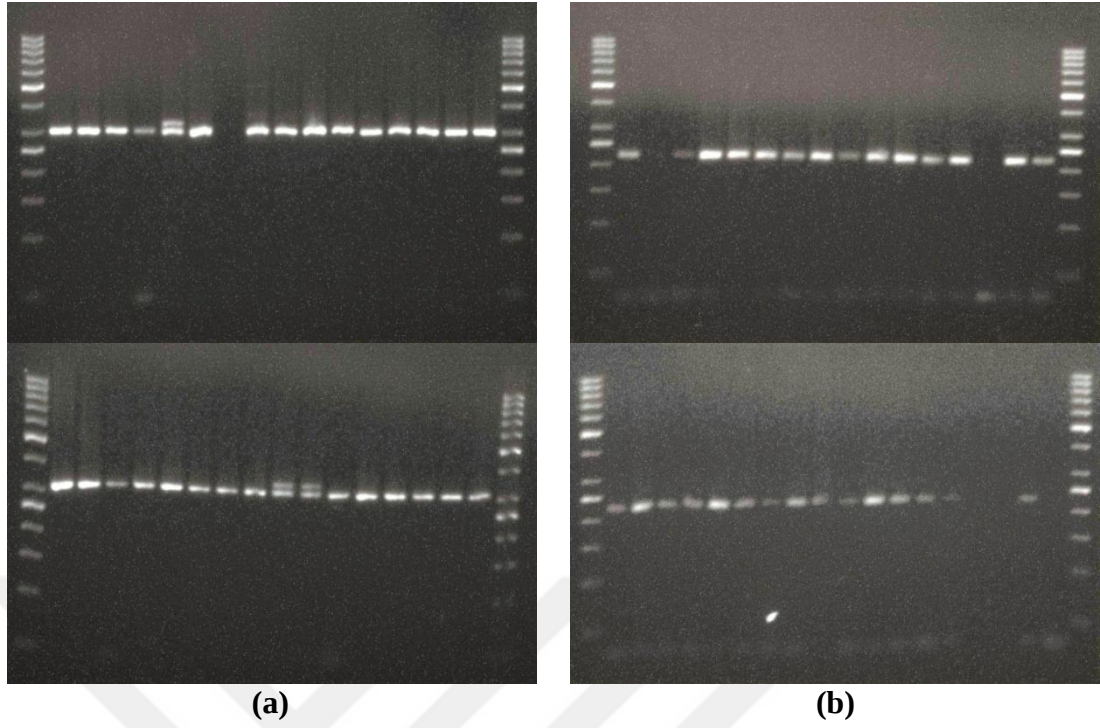
Şekil 4.8. (a) CPS08 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** CPS13 SSR primerine ait jel görüntüsü



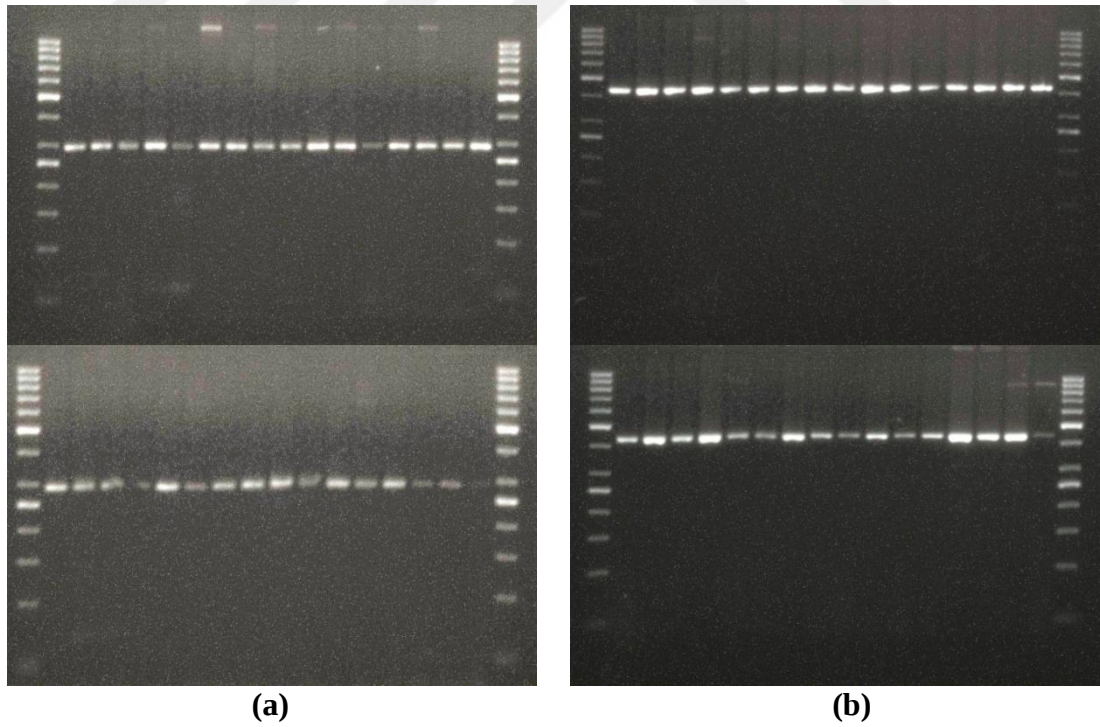
Şekil 4.9. (a) PstP001 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** PstP002 SSR primerine ait jel görüntüsü



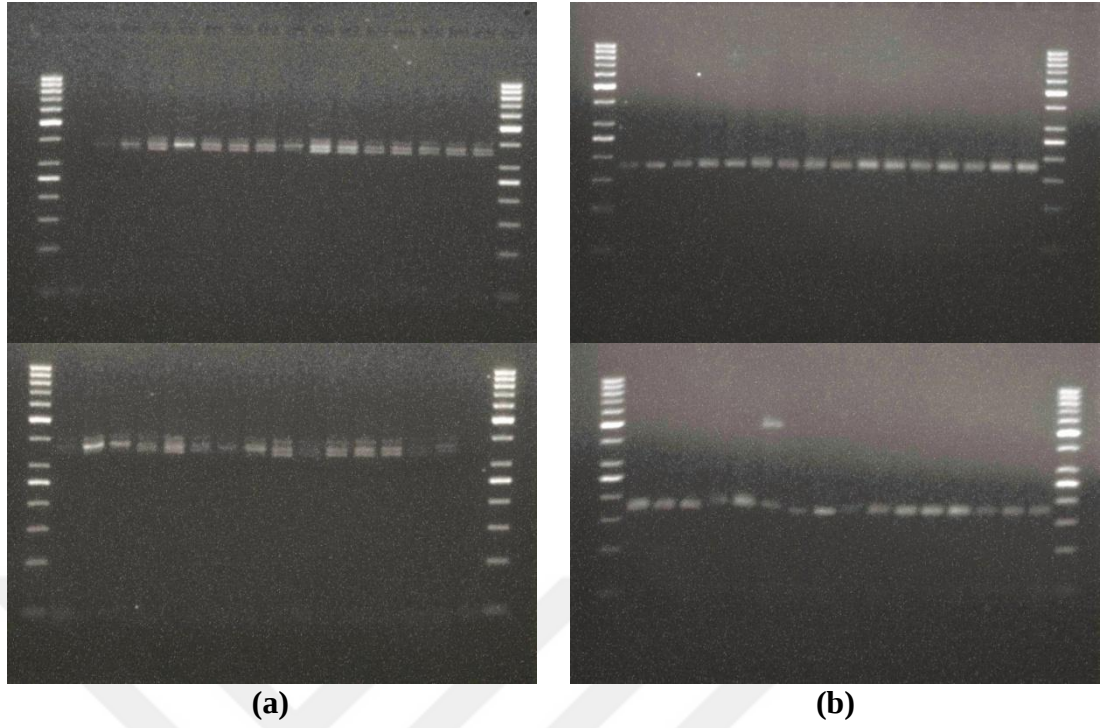
Şekil 4.10. (a) PstP003 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** PstP004 SSR primerine ait jel görüntüsü



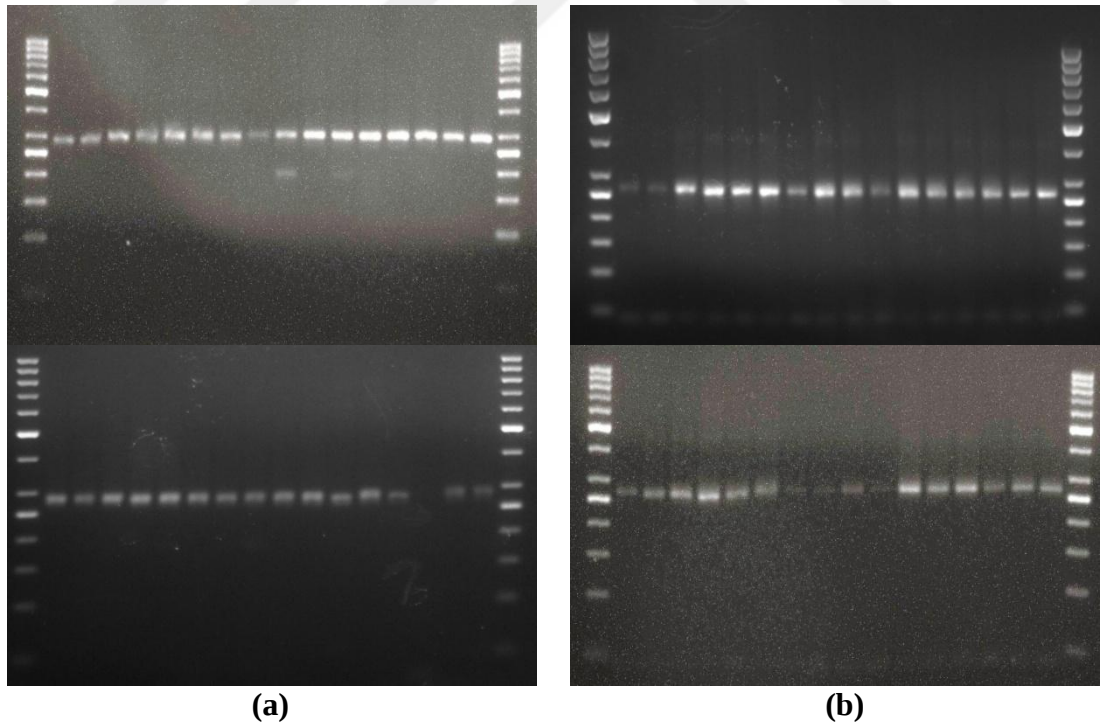
Şekil 4.11. (a) PstP005 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** PstP006 SSR primerine ait jel görüntüsü



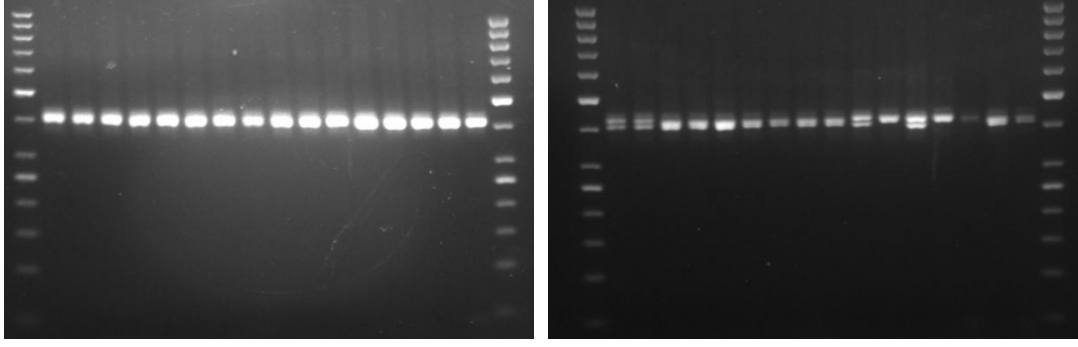
Şekil 4.12. (a) PstP007 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** PstP008 SSR primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.13. (a) PstP025 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** PstP029 SSR primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.14. (a) PstP030 SSR primerine ait jel görüntüsü; **(b)** PstP031 SSR primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.15. PstP033 SSR primerine ait jel görüntüsü

4.3. Moleküler verilerin analizi

4.3.1. Genetik çeşitlilik parametreleri

Çalışma kapsamında Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan 28 sarı pas izolatu ile farklı yıllara ait 4 izolat kullanılarak Akdeniz, Ege, 2008, 2011, 2012 ve 2017 olarak isimlendirilen 6 popülasyon oluşturulmuştur. Çalışmada Akdeniz bölgesinde %33.33, Ege bölgesinde %42.86, 2008 ve 2012’de %23.81, 2011’de %9.52 ve 2017’de %14.29 polimorfizm belirlenmiştir.

Her bir popülasyon için ayrıca allel frekansları da hesaplanmıştır. Ortalama allel frekansları RJ8N lokusunda 0.38-0.62, RJ18 lokusunda 0.02-0.81, CPS02 lokusunda 0.10-0.90, CPS08 lokusunda 0.01-0.65, PstP002 lokusunda 0.35-0.65, PstP003 lokusunda 0.39-0.41, PstP005 lokusunda 0.02-0.98, PstP025 lokusunda 0.30-0.37, PstP030 lokusunda 0.24-0.76 ve PstP033 lokusunda 0.39-0.61 arasında değişmektedir. RJ20, RJ21, CPS04, CPS13, PstP001, PstP004, PstP006, PstP007, PstP008, PstP029 ve PstP031 lokuslarında tek allel belirlendiği için allel frekansları 1’dir. Heterozigot olan lokuslardan sadece PstP025’de 3 allel diğerlerinde ise 2 allel tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre çalışmadaki *Pst* izolatları 10 lokusdabirden fazla allel görüldüğü için bu lokusların polimorfik olduğu, 11 lokusda ise tek allel görüldüğü için monomorfik yapıda olduğu belirlenmiştir. Çalışmada polimorfik lokus oranının % 47.62 olduğu saptanmıştır. Çizelge 4.3’e göre Akdeniz bölgesindeki TRYR3 izolatının CPS08 lokusundaki allel; Ege bölgesindeki TRYR19 izolatının RJ18 lokusunda ve TRYR27 izolatının PstP005 lokusundaki allel ve son olarak TRYR44 izolatının CPS02 lokusunda belirlenen allel sadece bu izolatlarda tespit edildiği için bu allellerin özgün olduğu belirlenmiştir. Çalışmada özgün allel frekansı Akdeniz bölgesindeki TRYR3 izolatında 0.03, Ege bölgesindeki TRYR19 izolatında 0.13 ve TRYR27 izolatında 0.08 ve 2012 yılına ait TRYR44 izolatında ise 1.00 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada kontrol olarak kullanılan izolatlardan TRYR35, TRYR43 ve TRYR56’da ise özgün allel bulunmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Popülasyonlardaki özgün (private) allel sayısı

İzolat	Popülasyon	Lokus	Allel	Frekans
TRYR3	Akdeniz	CPS08	184	0.03
TRYR19	Ege	RJ18	358	0.13
TRYR27	Ege	PstP005	330	0.08
TRYR44	2012	CPS02	117	1.00

Ek-2 incelendiğinde ise; etkili allel sayısı tüm lokuslar üzerinden Akdeniz bölgesinde 1.27 ± 0.09 , Ege bölgesinde 1.34 ± 0.11 , TRYR56 izolatında 1.19 ± 0.11 , TRYR43 izolatında 1.10 ± 0.07 ve TRYR44 izolatında 1.24 ± 0.10 , TRYR35 izolatında 1.095 ± 0.095 olarak hesaplanmıştır. Tüm izolatlarda ise ortalama etkili allel sayısı 1.10 ± 0.10 olarak hesaplanmıştır. Tek allel tespit edilen RJ20, RJ21, CPS04, CPS13, PstP001, PstP004, PstP006, PstP007, PstP008, PstP029 ve PstP031 lokuslarında etkili allel sayısı 1.00 olarak hesaplanmıştır. Etkili allel sayısı en yüksek olan lokusun PstP025 olduğu ve değerinin tüm izolatlarda 2.00 ile 2.72 arasında değiştiği belirlenmiştir. Diğer polimorfik olan lokuslar incelendiğinde; RJ8N lokusunda etkili allel sayısı Akdeniz bölgesinde (1.95), Ege bölgesinde (1.83), TRYR56 ile TRYR43 ve TRYR44 izolatlarında (2.00) ve TRYR35 izolatında (1.00) olarak hesaplanmıştır. RJ18 lokusunda en yüksek etkili allel sayısının Ege bölgesinde (1.28) olduğu belirlenmiştir. CPS02 lokusunda tüm izolatlarda etkili allel sayısı 1.00 olarak hesaplanmıştır. CPS08 lokusunda etkili allel sayısı Akdeniz bölgesinde (1.69), Ege bölgesinde (1.99) kontrol olarak kullanılan izolatlarda 1.00 olduğu belirlenmiştir. PstP002 lokusunda etkili allel sayısı 1.60 ile 2.00 arasında değişmektedir. PstP003 lokusunda TRYR35 izolatında etkili allel sayısı hesaplanmamıştır. Diğer izolatlarda etkili allel sayısı 1.80 ile 2.00 arasında değişmektedir. En yüksek etkili allel sayısı PstP005 lokusunda Ege bölgesinde (1.18), PstP025 lokusunda Akdeniz bölgesinde (2.27), PstP030 lokusunda Ege bölgesinde (1.99) ve PstP033 lokusunda ise kontrol olarak kullanılan izolatlarda (2.00) olarak hesaplanmıştır.

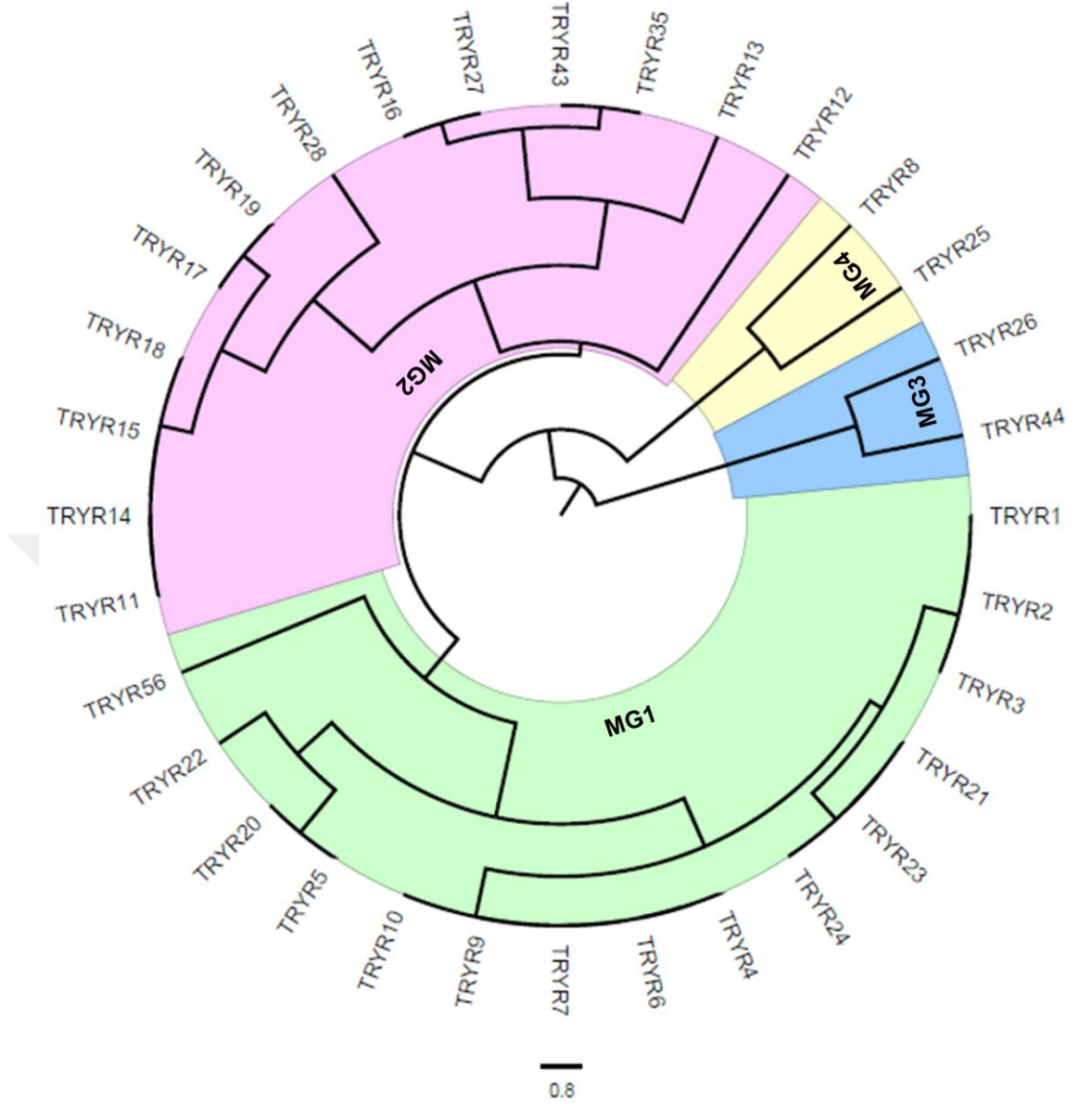
Çalışmada Shannon indeksi Ege bölgesinde 0.26 ± 0.07 , Akdeniz bölgesinde 0.22 ± 0.07 , TRYR44 ve TRYR56 izolatlarında 0.17 ± 0.07 , TRYR35 izolatında 0.10 ± 0.05 ve TRYR43 izolatında 0.07 ± 0.05 olarak hesaplanmıştır (EK-2).

Ek-2’de belirtilen heterozigotluk değerleri açısından çalışmadaki izolatlar; en yüksek gözlenen heterozigotluk değeri (H_o) TRYR44 ve TRYR56 izolatlarında (0.24 ± 0.10) en düşük H_o değeri ise TRYR43 izolatında (0.10 ± 0.07) olduğu belirlenmiştir. H_o değeri Akdeniz bölgesinde (0.17 ± 0.06), Ege bölgesinde ise (0.18 ± 0.06)’ dir. Beklenen heterozigotluk değeri (H_e) en yüksek Ege bölgesinde (0.18 ± 0.05) bunu Akdeniz bölgesi (0.15 ± 0.05) ile TRYR44 ve TRYR56 izolatları (0.12 ± 0.05) izlemektedir. En düşük H_e değeri ise TRYR43 izolatında (0.05 ± 0.03) hesaplanmıştır.

Hesaplanan SSR primerlerine ait PIC değerleri Ek-3’de belirtilmiştir. PIC değeri en yüksek PstP025 primerinde (0.56) hesaplanmıştır. Diğer polimorfik olan primerlerde ise CPS08’de (0.39) PstP003 ve PstP030’da (0.37), PstP002’de (0.32), PstP033’de (0.31), RJ18’de (0.09) ve CPS02 ile PstP005’de (0.06) olarak hesaplanmıştır. Ayrıca en yüksek heterozigotluk değeri PstP003 primerinde (0.80) elde edilmiştir.

4.3.2. Moleküler gruplar

Çalışmada 32 *Pst* izolatının 21 SSR primeri ile PZR yapılmıştır. PZR sonucunda çoğaltılan ürünler agaroz jel elektroforezde görüntülenmiş ve bant büyüklüklerine göre skorlama yapılmıştır. Skorlama sonucunda Popgene sürüm 1.31 (Yeh vd. 1991) programında oluşturulan dendrogram FigTree 1.4.4 (Rambaut 2018) programında düzenlenmiştir. Oluşturulan dendograma göre 32 *Pst* izolatı 4 moleküler grupta (MG) kümelenmiştir (Şekil 4.15). Dendograma göre MG1 içerisinde 15 *Pst* izolatı (%46.8) bulunmaktadır. Bunlar; Akdeniz bölgesinden 9 izolat (TRYR1, TRYR2, TRYR3, TRYR4, TRYR5, TRYR6, TRYR7, TRYR9 ve TRYR10), Ege bölgesinden 5 izolat (TRYR20, TRYR21, TRYR22, TRYR23 ve TRYR24) ve TRYR56’dır. MG2 içerisinde 13 *Pst* izolatı (%40.6) bulunmaktadır. Bu izolatların dağılımı Ege bölgesinden 6 izolat (TRYR12, TRYR13, TRYR18, TRYR19, TRYR27 ve TRYR28), Akdeniz bölgesinden 5 izolat (TRYR11, TRYR14, TRYR15, TRYR16 ve TRYR17) ve kontrol olarak kullanılan TRYR35 ve TRYR43 izolatlarında bu grup içerisinde toplanmıştır. En küçük moleküler gruplar ise 2’şer izolat içeren MG3 ve MG4’dır. MG3 içerisinde Ege bölgesinden TRYR26 ile kontrol olarak çalışmaya dahil edilen TRYR44 izolatı yer almaktadır. MG4’de ise Akdeniz bölgesinden TRYR8 ve Ege bölgesinden TRYR25 izolatı bulunmaktadır. Akdeniz ve Ege bölgesinden toplanan 28 izolatın 25 tanesi MG1 (14) ve MG2 (11) içerisinde kümelenmiştir.



Şekil 4.16. Moleküler verilere göre oluşturulan dendrogram

4.3.3. Genetik uzaklık ve genetik benzerlik değerleri

Çalışmada Popgene programında hesaplanan Nei' nin 1972 genetik uzaklık ve yakınlık değerleri Çizelge 4.4'de verilmiştir. Genetik uzaklık değerleri bakımından en yüksek genetik uzaklık (0.184) ile 2011-2012 izolatları arasında belirlenmiş olup bunu 2008-2011 arasında (0.156), Akdeniz-2012 arasında (0.145), Akdeniz-2008 arasında (0.117) olarak hesaplanmıştır. Popülasyonlar arasında en düşük genetik uzaklık değeri Akdeniz ve Ege bölgesindeki izolatlar arasında (0.011) belirlenmiştir. Genetik benzerlik bakımından Akdeniz ve Ege bölgesindeki izolatlar arasında (0.989), Akdeniz-2008 arasında (0.890), Akdeniz-2011 arasında (0.944), Akdeniz-2012 arasında (0.865) ve Akdeniz-2017 arasında (0.897) olarak hesaplanmıştır. En düşük genetik benzerlik 2011-2012 arasında (0.832) belirlenmiştir.

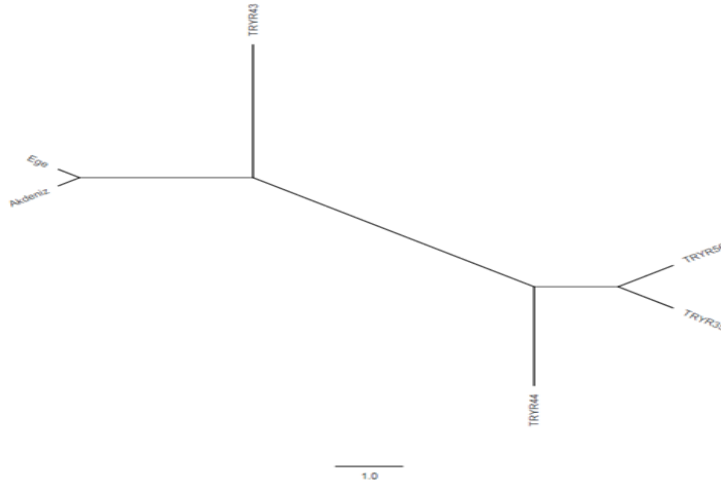
Çizelge 4.4. *Pst* popülasyonları arasındaki genetik benzerlik değerleri

	Akdeniz	Ege	2008	2011	2012	2017
Akdeniz	***	0.989	0.890	0.944	0.865	0.897
Ege		***	0.931	0.923	0.899	0.935
2008			***	0.855	0.917	0.945
2011				***	0.832	0.858
2012					***	0.919
2017						***

Çizelge 4.5. *Pst* popülasyonları arasındaki genetik uzaklık değerleri

	Akdeniz	Ege	2008	2011	2012	2017
Akdeniz	***					
Ege	0.011	***				
2008	0.117	0.071	***			
2011	0.058	0.080	0.156	***		
2012	0.145	0.107	0.087	0.184	***	
2017	0.109	0.067	0.057	0.153	0.085	***

Çizelge 4.5’de belirtilen genetik uzaklık değerleri kullanılarak Popgene sürüm. 1.31 programında Nei (1972)’e göre oluşturulan dendogram Figtree sürüm 1.4.4 programında düzenlenmiştir. Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan izolatların birbirine oldukça yakın olduğu, bu iki bölgedeki izolatlara genetik olarak en uzak olanların TRYR35 ve TRYR56 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca TRYR43 izolatının ise bu iki bölgedeki izolatlara eşit uzaklıkta yer almaktadır (Şekil 4.16).



Şekil 4.17. Genetik uzaklık değerlerine göre oluşturulan filogenetik ağaç

4.3.4. Pairwise *Fst* değerleri

Çalışmada *Pst* popülasyonları arasındaki genetik farklılığın belirlenmesi amacıyla hesaplanan pairwise *Fst* değerleri çizelge 4.6’de belirtilmiştir. Akdeniz ve Ege bölgelerindeki izolatlar arasında *Fst* değeri 0.047 olarak hesaplanmış ve bu iki popülasyon arasında genetik farklılığın az olduğu belirlenmiştir ($0 < Fst < 0.05$). En fazla genetik farklılık ise 2011 ve 2012 popülasyonları arasında belirlenmiştir ($Fst = 0.60$). Akdeniz bölgesindeki *Pst* izolatları ile kontrol olarak kullanılan izolatlar arasında ve yine Ege bölgesindeki *Pst* izolatları ile 2012 arasındaki genetik farklılıklar fazladır ($Fst > 0.25$). Diğer yandan Ege bölgesindeki *Pst* izolatları ile kontrol olarak kullanılan 2008, 2011 ve 2017 yılına ait izolatlar arasında ise genetik farklılık orta düzeydedir ($0.05 < Fst < 0.15$).

Çizelge 4.6. Popülasyonlar arasındaki pairwise *Fst* değerleri

	Akdeniz	Ege	2008	2011	2012	2017
Akdeniz	***					
Ege	0.047	***				
2008	0.410	0.108	***			
2011	0.210	0.149	0.333	***		
2012	0.609	0.451	0.333	0.600	***	
2017	0.410	0.108	-1.000	0.333	0.333	***

4.3.5. Göç eden birey sayısı (Nm) değerleri

Çalışmada *Pst* popülasyonları arasındaki göç eden birey sayısı (Nm) değerleri Çizelge 4.7’de belirtilmiştir. Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan *Pst* izolatları arasında her generasyonda yaklaşık 5 izolatın göç ettiği belirlenmiştir (Nm=5.070). Kontrol olarak kullanılan izolatlar ile Akdeniz bölgesinden toplanan *Pst* izolatları arasında göç eden izolat sayısı azdır ($0 < Nm < 1$). Ege bölgesinden toplanan *Pst* izolatları kontrol olarak kullanılan TRYR56 (2008), TRYR43 (2011) ve TRYR35 (2017) izolatları arasında her generasyonda 1’den fazla izolatın göç ettiği belirlenmiştir (Nm>1).

Çizelge 4.7. Popülasyonlar arasındaki göç eden birey sayısı (Nm) değerleri

	Akdeniz	Ege	2008	2011	2012	2017
Akdeniz	***					
Ege	5.070	***				
2008	0.360	2.065	***			
2011	0.940	1.428	0.500	***		
2012	0.161	0.304	0.500	0.167	***	
2017	0.360	2.065	0.000	0.500	0.500	***

4.3.6. Moleküler varyans analizi (AMOVA)

Çalışmada hesaplanan toplam genetik varyasyonun dağılımını belirlemek için moleküler varyans analizi (AMOVA) yapılmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Moleküler varyans analizi sonuçları

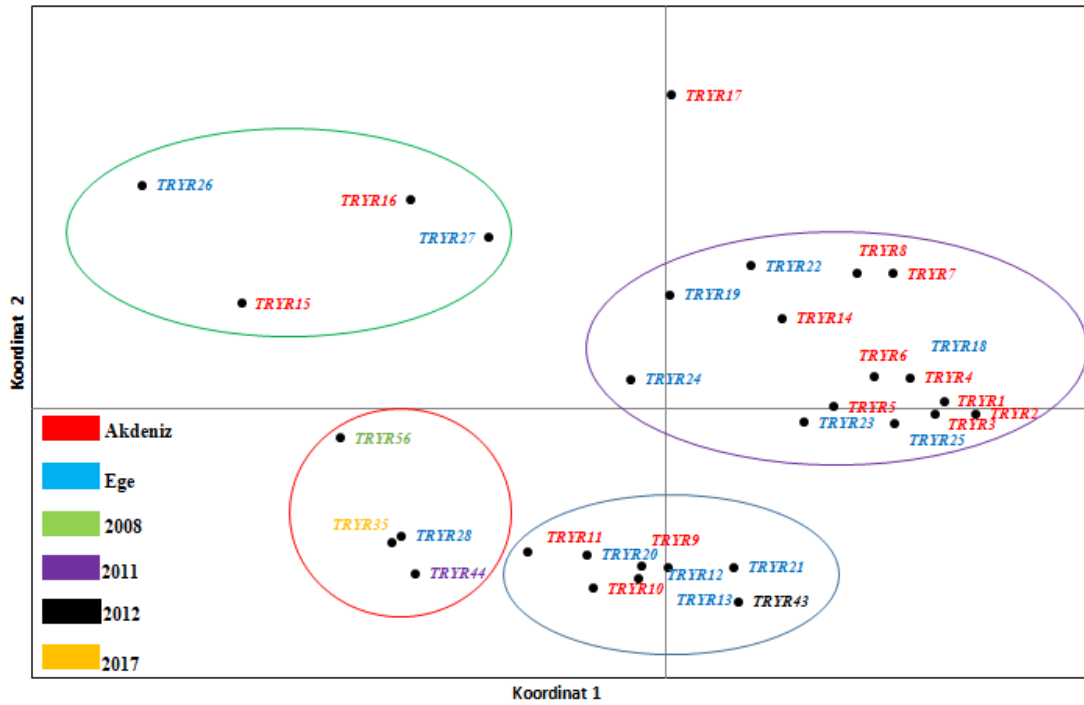
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Varyans bileşenleri	Varyans %
Popülasyonlar arası	5	9.075	0.114Va	14.66
Popülasyon içindeki izolatlar arası	26	23.972	0.258Vb*	33.13
İzolatlar arası	32	13.000	0.406Vc*	52.20
Toplam	63	46.047	0.778	

*p=0.001 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.8’de görülen AMOVA sonuçlarına göre, toplam genetik varyansın %52.20’si izolatlarda arasında, %33.13’ü popülasyon içindeki izolatlarda arasında ve kalan diğer %14.66’nın ise popülasyonlar arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı hesaplanmıştır. İstatiksel olarak izolatlarda arası ve popülasyon içindeki izolatlarda arasındaki farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir ($p=0.001$). Popülasyonlar arasında $p=0.122$ olarak hesaplanmış ve istatistiksel açıdan farklılık bulunmamaktadır. Elde edilen sonuçlara göre, çalışmadaki popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkların önemli olmadığı ancak *Pst* izolatları arasında genetik olarak farklılık olduğu belirlenmiştir.

4.3.7. Temel koordinant analizi (PCoA)

Temel koordinant analizinde (PCoA) çalışmadaki 32 *Pst* izolatının koordinat 1 ve koordinat 2 üzerindeki dağılımları görülmektedir (Şekil 4.18). PCoA analiz sonucuna göre *Pst* izolatları dört grup içinde toplanmıştır. Akdeniz ve Ege bölgesinden toplanan izolatların büyük çoğunluğu aynı grup içerisinde yer almaktadır. Kontrol olarak kullanılan izolatlardan TRYR35, TRYR44 ve TRYR56 bir grup içerisinde iken TRYR43 izolatı Akdeniz bölgesindeki ve Ege bölgesi içerisindeki izolatlar ile birlikte aynı grupta yer almaktadır.



Şekil 4.18. Çalışmadaki *Pst* izolatlarının PCoA analizi

4.4. Akdeniz ve Ege bölgesindeki *Pst* izolatlarının virülens ile moleküler grubunun karşılaştırılması

Akdeniz ve Ege bölgesindeki *Pst* izolatlarının virülens (VG) ve moleküler gruplarının (MG) karşılaştırılması Çizelge 4.9’da verilmiştir. MG1 içerisindeki 14 *Pst* izolatının %50’si VG1 ve VG3 içerisinde bulunmakta ve kalan diğer 7 izolat ise VG2, VG4 ve VG5 içerisinde 2’şer izolat ve VG6’da ise 1 izolat bulunmaktadır. MG2 içerisindeki 11 izolatın 10 tanesi VG1, VG4 ve VG5 içerisinde bulunmakta kalan diğer

izolat ise VG2 içerisinde. MG3 içerisinde sadece VG1'den izolat bulunmaktadır. MG4'de bulunan 2 izolatta VG2 (1) ve VG3 (1) içerisinde yer almaktadır. Elde edilen sonuçlara göre aynı moleküler grupta bulunan isolatlar farklı virülens grup içerisinde veya aynı virülens grup içerisinde bulunan isolatlar farklı moleküler grup içerisinde olabilmektedir. Akdeniz ve Ege bölgesindeki *Pst* isolatları aynı MG/VG gruplar içerisinde olduğu için moleküler ve virülens veriler bölgeler arasında *Pst* isolatlarının göç ettiğini göstermektedir.

Çizelge 4.9. Akdeniz ve Ege bölgesindeki isolatların virülens ve moleküler grupların karşılaştırılması

Virülens gruplar	Moleküler gruplar				Toplam
	MG1	MG2	MG3	MG4	
VG1	Ege(3)	Ege(2) Akdeniz(2)	Ege(1)		
<i>Toplam</i>	3	4	1		8
VG2	Akdeniz(2)	Ege(1)		Ege(1)	
<i>Toplam</i>	2	1		1	4
VG3	Akdeniz(4)			Akdeniz(1)	
<i>Toplam</i>	4			1	5
VG4	Ege(1) Akdeniz(1)	Ege(3)			
<i>Toplam</i>	2	3			5
VG5	Ege(1) Akdeniz(1)	Akdeniz(3)			
<i>Toplam</i>	2	3			5
VG6	Akdeniz(1)				
<i>Toplam</i>	1				1
Genel Toplam	14	11	1	2	28

5. TARTIŞMA

Puccinia striiformis f. sp. *tritici* (*Pst*)’nin sebep olduğu sarı pas hastalığı, dünya genelinde buğday üretimi yapılan alanlarda sıklıkla görülmekte ve buğday üretimi ekonomik olarak sınırlandırmaktadır. Yapılan bu çalışmada, 21 adet SSR primeri kullanarak Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan 28 sarı pas izolatu ile 2008, 2011, 2012 ve 2017 yıllarına ait izolatlar moleküler ve virülens olarak karakterize edilmiştir. Çalışmada Akdeniz ve Ege bölgelerindeki *Pst* popülasyonları arasında genetik olarak çok büyük bir farklılık görülmemektedir. Çalışmada 4 moleküler grup (MG) ve 6 virülens grup (VG) belirlenmiş olup çalışılan bölgeler arasındaki *Pst* izolatlarının birbirine benzer olduğu belirlenmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada 409 *Pst* izolatu 20 adet SSR primeri kullanılarak moleküler olarak karakteri edilmiş ve bu çalışılan *Pst* izolatlarının 6 MG grup içinde kümelendiği bildirilmiştir (Ali vd. 2014). Yine, Çin ve Amerika’da toplam 137 *Pst* izolatu 12 SSR primeri ile taranmış ve 7 moleküler grup (MGs) belirlenmiştir. Ayrıca ırk ayırıcı set üzerinde virülens testlemesi sonucunda 20 virülens grup (VGs) belirlenmiştir (Zhan vd. 2012).

Yapılan benzer çalışmalar incelendiğinde genetik çeşitliliği belirlemek için küresel düzeyde farklı ülke ve bölgelerden *Pst* izolatu analiz edilmesine karşın genetik olarak izolatların farklı gruplar oluşturmakla birlikte çoğunluğunun bir moleküler grup içinde kümelendiği rapor edilmiştir (Hovmöller vd. 2008; Bahri vd. 2009, 2011; Ali vd. 2014; Sharma-Poudyal vd. 2020).

Sharma-Poudyal vd. (2020) tarafından küresel düzeyde gerçekleştirilen bir çalışmada 16 ülkeyi kapsayan 8 coğrafik bölgeden toplanan 283 *Pst* izolatu 24 SSR primeri ile analiz edilmiş ve 8 moleküler grup ve 11 virülens grup belirlenmiştir. Yine Sharma-Poudyal vd. (2013) 13 ülkeden toplanan 235 *Pst* izolatının virülensliklerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmada iki farklı ırk ayırıcı set üzerinde test edilmiş ve test edilen 235 *Pst* izolatu Avrupa ırk ayırıcı setinde 129 ve Amerika ırk ayırıcı setinde 169 tane farklı virülenslik belirlenmiştir. Bahsedilen bu iki çalışmada çok sayıda *Pst* izolatu test edilmesine rağmen izolatlar arasında çok büyük bir farklılık belirlenmemiş olup üredesporların hava yoluyla göç ettiği bildirilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile bulgularımız benzerlik göstermektedir.

Küresel düzeyde farklı ülke ve coğrafik bölgelerdeki *Pst* izolatları arasında genetik farklılık daha yüksek oranda görülmektedir. Genellikle Doğu Asya, Güney Asya, Akdeniz ve Orta Asya’yı içeren Asya popülasyonları diğer kıtalardan daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olduğu bilinmektedir. Aynı sayıda örnekle çalışılmasına rağmen Çin, Pakistan ve Nepal’deki *Pst* izolatları arasında genetik çeşitlilik değerleri değişmektedir (Ali vd. 2014; Sharma-Poudyal vd. 2020). Bu yürütülen çalışmalar sonucunda *Pst* izolatları arasında genetik çeşitlilik en fazla Asya kıtasında belirlenmiştir. Bunun çeşitliliğin nedeninin bu kıtada görülen eşeyli üremeden kaynaklandığı yapılan birçok çalışmada belirtilmiştir (Mboup vd. 2009; Duan vd. 2010; Jin vd. 2010; Zhao vd. 2013; Ali vd. 2014; Zhao vd. 2016). Çalışmamızda sorvey yapılan bölgeler arasında genetik çeşitliliğin az olması belirtilen bu çalışmalar ile karşılaştırıldığında normal olduğu anlaşılmaktadır.

Pst izolatlarında özgün allel sayısının varlığı toplam genetik çeşitliliğe katkıda bulunmaktadır. Çalışmada TRYR3, TRYR19, TRYR27 ve TRYR44 izolatlarında özgün allel belirlenmiştir. Yapılan benzer çalışmalarda Çin, Pakistan, Nepal, Türkiye, Kırgızistan, Rusya ve Şili ülkelerinden toplanan *Pst* izolatlarında özgün allel tespit edilmiştir (Sharma-Poudyal vd. 2020). Ali vd. (2014) Pakistan, Çin ve Nepal’de *Pst* izolatları arasında daha yüksek oranda özgün allel sayısı tespit etmişlerdir. Son yıllarda meydana gelen genetik rekombinasyon ve mutasyon sonucunda izolatlarda özgün allellerin sayısında artış görülmektedir ve özgün allele sahip izolatlar ülke dışına göç etmemektedir. Ancak yinede özgün allele sahip izolatların küresel düzeyde yapılan *Pst* sürveylerinde izlenmesi gerekmektedir çünkü bunlar farklı virülens formülüne veya patojenin adaptasyonu için diğer farklı özelliklere sahip olabilirler.

2009-2010 yıllarına ait Türkiye’den toplanan *Pst* izolatlarında Shannon indeksi (0.71), allel sayısı (2.71), etkili allel sayısı (1.93) ve polimorfik lokus (%96) olduğu rapor edilmiştir (Sharma-Poudyal vd. 2020). Yapılan bu çalışma ile karşılaştırıldığında Akdeniz bölgesinde ve Ege bölgesindeki *Pst* izolatlarında belirtilen bu parametre değerleri daha düşük bulunmuştur.

Heterozigotluk, *Pst* gibi diploid veya dikaryotik yapıdaki bitki patojenlerinin meydana gelen genetik değişimlerini anlamak için önemlidir. Liu vd. (2012) heterozigot varyasyon muhtemelen mutasyon aracılığı ile ortaya çıktığını bildirmiştir. Ayrıca eşeyli veya eşeysiz genetik rekombinasyon sonucunda heterozigot yapıda izolatlar oluşabilir (Sharma-Poudyal vd. 2020). Dünya genelinde yüksek oranda heterozigotluk sarı pasın dışında diğer paslarda da *P. tritici* (Ordoñez ve Kolmer 2007), *P. graminis* f. sp. *tritici* (Burdon ve Roelfs 1985), *Uromyces appendiculatus* (Groth vd. 1995) ve *Melampsora lini*’de (Barrett vd. 2008) rapor edilmiştir. Sharma-Poudyal vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada bazı lokuslarda *Pst* izolatların %76’sının heterozigot yapıda olduğu bulunmuştur. Genom sekanslama yöntemi kullanılarak yapılan birçok çalışmada *Pst* izolatları arasında yüksek heterozigotluk olduğu rapor edilmiştir (Cantu vd. 2013; Zheng vd. 2013; Ali vd. 2014; Xia vd. 2016, 2018). Yine benzer bir çalışmada farklı ülkelerden toplanan *Pst* izolatları arasında heterozigotluk değerleri Çin (0.28), Nepal (0.40) ve Pakistan (0.35) olduğu belirtilmiştir (Ali vd. 2014). Sharma-Poudyal vd. (2020) tarafından 2009-2010 yıllarına ait Türkiye’den 56 *Pst* izolatı 24 SSR belirteci kullanılarak analiz edilmiş ve heterozigotluk değeri 0.46 olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise *Pst* izolatları arasında heterozigotluk değerleri Akdeniz bölgesinde (0.16) ve Ege bölgesinde (0.18) olarak hesaplanmıştır.

Küresel pas referans merkezi (GRCC) tarafından 18 ülke ve üç kıtadan toplam 285 sarı pas örneği genotiplenmiş ve *Pst* genetik grupları içerisinde yeni ırkların belirlenmesi ve genetik grupların doğrulanması için 65 izolatın ırk tanımlanması yapılmıştır (Hovmöller vd. 2020). Aynı çalışma kapsamında PstS11 Afrika ve Orta Doğu’daki altı ülkede (Etiyopya, Kenya, Ruanda, Tanzanya, Uganda ve Türkiye) bulunduğu rapor edilmiştir. PstS11 ilk olarak 2012 yılında Afganistan’da tespit edilmiş ve ardından diğer komşu ülkelere yayılmıştır. Şu ana kadar, PstS11’de sadece tek bir ırkın olduğu ve Yr2, Yr4, Yr6, Yr7, Yr8, Yr17, Yr27, Yr32 ve AvS genleri üzerinde virulent olduğu belirlenmiştir. Türkiye’de 2019 yılında PstS13 ve PstS14 tespit edildiği bildirilmiştir (Hovmöller vd. 2020). PstS13 genetik grubunda Triticale2015 ırkının Yr2, Yr6, Yr7, Yr8 ve AvS genlerine virulent; PstS14’ün ise Yr2, Yr3, Yr6, Yr7, Yr8, Yr9,

Yr17, *Yr25*, *Yr32*, *YrSp* ve *AvS* genlerine karşı virulent olduğu belirlenmiştir. Son yıllarda birçok ülke ve kıtada her iki genetik grupta belirlenmiş olup Avrupa'da *PstS13*'te *Yr10* üzerinde virulent olan yeni bir ırk tespit edilmiştir. *PstS13* izolatlarının agresif olduğu, örneğin tritikale çeşitleri (Kuzey Avrupa ve Güney Amerika), makarnalık buğday (Kuzey Avrupa) ve yazlık buğday çeşitlerinde (Güney Amerika) önemli verim kayıplarına neden olmuştur (Carmona vd. 2019). Ayrıca *PstS14*'ün *Fas*'da baskın olduğu ve Avrupa ülkelerinde de görüldüğü ancak yoğunluğunun az olduğu belirtilmiştir (Hovmöller vd. 2020). *PstS10*, Avrupa'da ekmeklik buğdayda en yaygın genetik gruptur ve *Yr1*, *Yr2*, *Yr3*, *Yr4*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr25*, *Yr32*, *YrSp* ve *AvS* genleri üzerinde virulent olduğu belirtilmiştir. Diğer yandan, son yıllarda, yerel ve yaygın olarak yetiştirilen buğday çeşitlerinde etkili olan yeni ırklar *PstS10*'da ortaya çıkmış ve çeşitlerde dayanıklı olanlar hassas, hassas olanlar daha hassas hale gelmiştir (Hovmöller vd. 2020). 'Warrior' ırkı Avrupa'da tespit edilmiş ancak fazla yoğun olmadığı bildirilmiştir. Benzer şekilde 'Kranich' ırkını içeren *PstS8*'de Avrupanın çoğu bölgesinde yoğunluğunun az olduğu belirtilmiştir. Fransa'da 2017, 2018 ve 2019 yıllarında ve yine 2019 yılında Danimarka'da *PstS15* olarak adlandırılan yeni genetik grup içerisinde yeni bir ırk belirlenmiş ve bu ırk ile ilgili çalışmaların devam ettiği rapor edilmiştir (Hovmöller vd. 2020).

Bux vd. (2012) tarafından Pakistan *Pst* izolatlarının *Yr17*, *Yr24* ve *Yr25* genlerini taşıyan setlerde düşük virülenslik (%18-19); *YrA*, *Yr1*, *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *YrUkn*, *Yr27*, *Yr28*, *Yr31* ve *YrExp2* taşıyan setlerde yüksek virülenslik gösterdiği, *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr32* ve *YrSP*' de ise virulent olmadığı; ABD izolatlarının ise *Yr1* ve *Yr25* e karşı düşük (%22), *Yr2*, *Yr7*, *Yr17*, *Yr31* ve *Exp2* yüksek virülenslik (%67-100), *Yr5*, *Yr15* ve *YrSP*'de ise virulent olmadığı belirlenmiştir. Yine benzer bir çalışmada Amerika'daki 34 *Pst* izolatı ırk ayırıcı set üzerinde test edilmiş ve bu izolatların *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr27*, *Yr43*, *Yr44* ve *YrExp* en yüksek; *Yr1*, *YrTr1* ve *YrTye*'nin orta; *Yr10*, *Yr24*, *Yr32* ve *YrSP*'nin düşük virülensliğe sahip oldukları ve *Yr5* ve *Yr15* ise virülens olmadıkları belirlenmiştir (Wan ve Chen 2014). Bu çalışmada da önceki çalışmalar gibi 32 *Pst* izolatının *Yr5* ve *Yr15*'de virulent olmadığı belirlenmiştir.

Pst izolatlarının virülensliğini belirlemek amacıyla yapılan diğer bir çalışmada ırk ayırıcı set üzerinde test edilen izolatların *Yr5*, *Yr15* veya *YrSP* üzerinde virulent olmadığı; *YrA*, *Yr2*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr27*, *Yr29*, *Yr32*, *YrSu*, 'Heines VII', ve 'Nord Deprez' üzerinde virulent olduğu belirlenmiştir (Brar ve Kutcher 2016). Çalışmamızda ise *Yr5*, *Yr15* üzerinde virulent olan izolat tespit edilmemiş ancak *YrSP* üzerinde virulent olan izolatlar saptanmıştır. Diğer bir çalışmada ise *Pst* ırklarının *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr27*, *Yr44* ve *YrExp2*'ye yüksek sıklıkla (%80'den fazla), *Yr1*, *Yr43*, *YrTr1*'e karşı orta derecede (%20-80), *Yr10*, *Yr24*, *Yr32* ve *YrSP*'ye düşük (%10'dan az) virülens oldukları ve *Yr5* ile *Yr15*'e virülens olmadıkları saptanmıştır (Wan vd. 2016). Bu çalışmada da *Pst* izolatlarının *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9* genleri üzerinde virulent olduğu belirlenmiştir.

Akan (2019) tarafından yürütülen çalışmada 3 *Pst* izolatının *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr24*, *Yr26* ve *Yr32* genleri üzerinde avirulent olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada ise *Yr10*, *Yr24* ve *Yr32* genleri üzerinde virulent olan *Pst* izolatlarının olduğu rapor edilmiştir. Mert vd. (2012) tarafından doğal koşullarda gerçekleşen sarı pas hastasına karşı ergin dönemde *Yr1*, *Yr3V*, *Yr4+*, *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *YrSP* ve *YrCV* dayanıklılık genlerinin dayanıklılık sağladığı bildirilmiştir. Yine aynı araştırmacı tarafından

yürütülen başka bir çalışmada ise *Yr1*, *Yr2*, *Yr3*, *Yr4*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr25*, *Yr32* ve *YrSp* dayanıklılık genlerinin Edirne ve Sakarya'dan toplanan *Pst*'ye karşı etkili olmadığı belirlenmiştir (Mert vd. 2016). Bu çalışmada ise Akdeniz ve Ege bölgesinden toplanan izolatlara karşı *Yr1*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr32* ve *YrSp* dayanıklılık genlerinin etkili olmadığı bulunmuştur. Gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise Batı Akdeniz ve Güney Ege'de doğal hastalık popülasyonuna karşı *Yr6*, *Yr7*, *Yr8* ve *Yr10* genlerinin dayanıklılık sağladığı; *Yr1*, *Yr2*, *Yr3a*, *Yr9*, *Yr17*, *Sd* ve *So* dayanıklılık genlerinin ise etkili olmadığı rapor edilmiştir (Zeybek ve Yiğit 2004).

Ülkemizde 2000 yılı ve öncesinde yapılan çalışmalarda mevcut *Pst* popülasyonuna karşı *Yr2*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Gaby* ve *A+* (Anza, Sonalika) genlerinin dayanıklılık sağlamadığı bildirilmiştir (Çetin vd. 2000). Benzer başka bir çalışmada ise mevcut *Pst* popülasyonuna karşı *Yr1*, *Yr2+*, *Yr5*, *Yr3V*, *Yr7+*, *Yr8+*, *Yr9+*, *YrCV*, *YrSp* genlerinin dayanıklılık sağladığı bildirilmiştir (Mamluk vd. 1997). Bu çalışmaların aksine yapılan bu tez çalışmasında kullanılan ırk ayırıcı sette yer alan genotiplerin her birinin tek bir dayanıklılık geni içermektedir ve Akdeniz ve Ege'deki *Pst* izolatlarına karşı *Yr1*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr8*, *Yr9* ve *YrSp* genlerinin dayanıklılık sağlamadığı belirlenmiştir.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında 2018 ve 2019 yıllarında Akdeniz ve Ege bölgesinden 17 tanesi ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), 7 tanesi makarnalık buğday (*Triticum turgidum* spp. *durum*) ve 4 tanesi tritikale (*Tritico secale*)’den olmak üzere toplam 28 *Pst* izolatu toplanmıştır. Ayrıca çalışmadaki izolatları karşılaştırmak amacıyla daha önceki yıllarda ülkemizde epidemiye sebep olan 4 *Pst* izolatu (TRYR35, TRYR43, TRYR44 ve TRYR56) çalışmada kullanılmıştır.

Çalışmada kapsamında Akdeniz ve Ege bölgesinden toplanan izolatların virülensliklerinin belirlemek için 16 *Yr* tek gen içeren ırk ayırıcı set üzerinde testlenmiştir. Testleme sonucunda izolatların virulent olduğu gen sayısı 4 ile 9 arasında değiştiği belirlenmiştir. Virülensliği en yüksek olan izolatların TRYR10 ile TRYR13 olduğu ve aynı virülens fenotipine (*Yr1*, *Yr6*, *Yr7*, *Yr9*, *Yr17*, *Yr32*, *Yr43*, *YrSp*, ve *YrTr1*) sahip oldukları belirlenmiştir. Virülensliği en düşük olan izolatların ise TRYR24 (*Yr6*, *Yr7*, *Yr9* ve *Yr17*) ve kontrol olarak kullanılan TRYR56 (*Yr6*, *Yr7*, *Yr8* ve *Yr9*)’dır. Çalışmada tüm izolatların *Yr6* dayanıklılık genine virulent olduğu belirlenmiştir. Çalışmadaki *Pst* izolatlarının %70’den fazlasının *Yr7* (%78) ve *Yr9* (%84) dayanıklılık genleri üzerinde virulent olduğu, %20 ile %70 arasında *Yr1* (%50), *Yr8* (%50), *Yr10* (%25), *Yr17* (%38), *Yr24* (%22), *Yr27* (%31), *Yr32* (%22), *Yr43* (%47) ve *YrSp* (%41) dayanıklılık genlerine virulent olduğu belirlenmiştir. İzolatların %6’sının *Yr44* ve *YrTr1* dayanıklılık genlerine virulent oldukları belirlenmiştir. Çalışmada tüm izolatların *Yr5* ve *Yr15* dayanıklılık genlerine etkili olmadığı (avirulent) belirlenmiştir.

Çalışmada izolatlar virülens fenotiplerine göre 6 virülens gruba (VG) ayrılmış ve 32 izolatın 12 tanesi VG1 içerisinde, diğer izolatların dağılımı ise VG3 (5), VG4 (5), VG5 (5), VG2 (4) ve VG6 (1) şeklindedir. Kontrol olarak kullanılan izolatlar VG1 içerisinde kümelenmiştir.

VG1 içerisindeki tüm izolatlar *Yr9* dayanıklılık genine virulent ve *Yr44* dayanıklılık geni üzerinde ise avirulentdir.

VG2 içerisindeki tüm izolatların *Yr1* ve *Yr10* dayanıklılık genine virulent olduğu; *Yr24*, *Yr27*, *Yr32*, *Yr43*, *Yr44* ve *YrTr1* dayanıklılık genlerinde ise avirulent olduğu tespit edilmiştir.

VG3 içerisindeki tüm izolatların *Yr8*, *Yr9*, *Yr43* ve *YrSp* dayanıklılık genleri üzerinde virulent; *Yr1*, *Yr7*, *Yr10*, *Yr17*, *Yr24*, *Yr44* ve *YrTr1* dayanıklılık genlerinde ise avirulentdir.

VG4 içerisindeki tüm izolatların *Yr6*, *Yr7* ve *Yr43* dayanıklılık genlerine virulent, *YrTr1* dayanıklılık genine ise avirulentdir.

VG5 içerisindeki tüm izolatların sadece *Yr5* ve *Yr15* dayanıklılık genlerine avirulent olduğu diğer dayanıklılık genlerine ise farklı virülenslik frekansına sahiptirler.

VG6 içerisindeki sadece TRYR9 izolatu bulunmakta ve virülens fenotipi (-,-,6,7,-,-,-,17,24,27,-,-,44,Sp,-,AvS) şeklindedir.

Çalışmanın moleküler kısmında 21 SSR primeri kullanılarak 32 *Pst* izolatu karakterize edilmiştir. 21 lokusun 11 tanesinde tek allel (RJ20, RJ21, CPS04, CPS13, PstP001, PstP004, PstP006, PstP007, PstP008, PstP029 ve PstP031) ve kalan diğer 10 lokusta (RJ8N, RJ18, CPS02, CPS08, PstP002, PstP003, PstP005, PstP025, PstP030 ve PstP033) ise 1 ile 3 arasında bant elde edilmiştir. Yapılan bu çalışmada 32 izolat 4 moleküler grupta (MG) kümelenmiştir. İzolatların %46.8'i MG1, %40.6'sı MG2 içerisinde bulunmaktadır. Akdeniz bölgesindeki izolatların çoğunluğu MG1 içerisinde, MG2 içerisinde de hem Akdeniz hemde Ege bölgesindeki izolatlar bulunmaktadır.

Hovmoller vd. (2020) tarafından, Türkiye'de PstS11, PstS13, PstS14 ve ME2018 genetik gruplarının bulunduğu rapor edilmiştir. Çalışmada MG1 ve MG2 içerisindeki izolatların PstS2 ile benzer genetik gruba sahip olduğu, MG3'ün ise PstS13 genetik grubu ile benzer olduğu belirlenmiştir.

Moleküler varyans analizi sonuçlarına göre, izolatlar arasında ve bölgeler içindeki izolatlar arasında genetik varyasyon istatistiksel açıdan önemli, bölgeler arasında ise önemsizdir. Çalışmada Akdeniz ve Ege bölgesindeki izolatlar arasında hesaplanan *Fst* değeri çok küçük olduğundan ($0 < Fst < 0.05$) bölgeler arasında göç eden izolat sayısının fazla olduğu belirlenmiştir ($Nm=5.070$). Akdeniz ve Ege bölgesindeki *Pst* izolatları arasında farklılık olmadığı ve bu bölgelerde yerleşik klonal *Pst* popülasyonunun olduğunu kanıtlamaktadır.

Yapılan bu çalışma ile Akdeniz ve Ege bölgesindeki izolatların virülenslikleri ve moleküler tanımlanmaları başarılı bir şekilde yapılmıştır. Literatürde belirtilenin aksine *Yr10* dayanıklılık geninin etkili olmadığı belirlenmiştir. *Yr5* ve *Yr15* dayanıklılık genlerinin ise çalışmadaki tüm izolatlara karşı etkili olduğu saptanmıştır. Bu verilerin ışığında bu iki bölgedeki buğday ıslah programlarında sürdürülebilir dayanıklılık için *Yr5* ve *Yr15* genlerinin tek tek ya da her ikisini gen piramitlemesiyle yeni geliştirilecek hatlara aktarılmalıdır. Hastalık etmeninin epidemiyeye sebep olmadan önce yeni virulent ırklarının belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu nedenle Akdeniz ve Ege bölgeleri dışında diğer bölgelerde de popülasyon yapısı ve bölgeler arasındaki popülasyon hareketliliğinin belirlenmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, USA.
- Akan, K. 2019. Sarı Pas (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) hastalığına dayanıklı makarnalık buğday hatlarının geliştirilmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6: 661-670.
- Akan, K., Mert, Z., Çetin, L., Salantur, A., Yazar, S., Dönmez, E., Özdemir, B., Yalçın, S., Özer, Y. ve Wanyera, R. 2012. Bazı Buğday Genotiplerinin Lokal Sarı Pas ve Kara pas ırklarıyla ug99 kara pas ırkına reaksiyonlarının belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 21(1): 22-31.
- Ali, S., Gladieux, P., Leconte, M., Gautier, A., Justesen, A.F., Hovmöller, M.S., Enjalbert, J. and de Vallavieille-Pope, C. 2014. Origin, migration routes and worldwide population genetic structure of the wheat yellow rust pathogen *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*. *Plos Pathogens*, 10(1): e1003903.
- Ali, S., Leconte, M., Walker, A.S., Enjalbert, J. and de Vallavieille-Pope, C. 2010. Reduction in the sex ability of worldwide clonal populations of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*. *Fungal Genetics and Biology*, 47: 828-838.
- Anonim (2004) Ülkesel Serin İklim Tahılları Projesi, Hububat Hastalıkları Dayanıklılık Çalışmaları, Yıllık Rapor, TARM, Yayınlanmamış.
- Bahri, B., Leconte, M., de Vallavieille-Pope, C. and Enjalbert, J. 2009. Isolation of ten microsatellite loci in an EST library of the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Conservation Genetics*, 10: 1425-1428.
- Bahri, B., Shah, S.J.A., Hussain, S., Leconte, M., Enjalbert, J. and de Vallavieille-Pope, C. 2011. Genetic diversity of the wheat yellow rust population in Pakistan and its relationship with host resistance. *Plant Pathology*, 60: 649-660.
- Barrett, L.G., Thrall, P.H., Burdon, J.J., Nicotra, A.B. and Linde, C.C. 2008. Population structure and diversity in sexual and asexual populations of the pathogenic fungus *Melampsora lini*. *Molecular Ecology*, 17: 3401-3415.
- Beddow, J.M., Pardey P.G., Chai Y., Hurley T.M., Kriticos D.J., Braun H-J., Park R.F., Cuddy W.S. and Yonow, T. 2015. Research investment implications of shifts in the global geography of wheat stripe rust. *Nature Plants*, 1: 15132.
- Boshoff, W.H.P., Visser, B., Lewis, C.M., Adams, T.M., Saunders, D.G.O., Terefe, T., Soko, T., Chiuraise, N. and Pretorius, Z.A. 2020. First Report of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, Causing Stripe Rust of Wheat, in Zimbabwe. *Plant Disease*, 104(1): 290-290.
- Brar, G.S. and Kutcher, H.R. 2016. Race characterization of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the cause of wheat stripe rust, in Saskatchewan and Southern Alberta, Canada and virulence comparison with races from the United States. *Plant Disease*, 100(8): 1744-1753.
- Brar, G.S., Kutcher, H.R. and Fu, Y.B. 2014. Race structure characterization and genetic diversity analysis of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Saskatchewan. Abstracts presented at the APS-CPS Joint Meeting in Minneapolis, Minnesota, U.S.A., August 9-13, 20. *Phytopathology*, 104(3): S3.18.

- Braun, H.J. and Saari, E.E. 1992. An assesment of the potential of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* to cause yield losses in wheat on the Anatolian Plateau of Turkey. *Vortrage Pflanzenzucht*, 24: 121-123.
- Braun, H.J., Atlin, G. and Payne, T. 2010. Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. In MP Reynolds, ed, *Climate Change and Crop Production*. CABI, Oxfordshire, UK, pp 115-138.
- Burdon, J.J. and Roelfs, A.P. 1985. Isozyme and virulence variation in asexually reproducing populations of *Puccinia graminis* and *Puccinia recondita* on wheat. *Phytopathology*, 75: 907-913.
- Bux, H., Rasheed, A., Mangrio, S.M., Abro, S.A., Shah, S.J.A., Ashraf, M. and Chen, X. 2012. Comparative virulence and molecular diversity of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) collections from Pakistan and United States. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14: 851-860.
- Cantu, D., Segovia, V., MacLean, D., Bayles, R., Chen, X., Kamoun, S., Dubcovsky, J., Saunders, D.G.O. and Uauy, C. 2013. Genome analyses of the wheat yellow (stripe) rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* reveal polymorphic and haustorial expressed secreted proteins as candidate effectors. *BMC Genomics*, 14: 270.
- Carleton, M.A. 1915. A serious new wheat rust in this country. *Science*, 42: 58-59.
- Carmona, M.A., Sautua F.J., Pérez-Hernández O., et al., 2019. Rapid emergency response to yellow rust epidemics caused by newly intro-duced lineages of *Puccinia striiformis*f.sp. *tritici* in Argentina. *Trop. Plant Pathol*, 44: 385–39.
- Chen, X.M. and Kang, Z.S. 2017. Introduction: history of research, symptoms, taxonomy of the pathogen, host range, distribution, and impact of stripe rust. *Stripe Rust*, X. M. Chen and Z. S. Kang eds. Springer, Dordrecht. Pages 1-33.
- Chen, C.Q., Zheng, W.M., Buchenauer, H., Huang, L.L., Lu, N.H. and Kang, Z.S. 2009a. Isolation of microsatellite loci from expressed sequence tag library of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Molecular Ecology Research*, 9: 236-238.
- Chen, W., Wellings, C., Chen, X., Kang, Z. and Liu, T. 2014. Wheat stripe (yellow) rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Molecular Plant Pathology*, 15(5): 433-446.
- Chen, W.Q., Wu, L.R., Liu, T.G., Xu, S.C., Jin, S.L., Peng, Y.L. and Wang, B.T. 2009b. Race dynamics, diversity, and virulence evolution in *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the causal agent of wheat stripe rust in China from 2003 to 2007. *Plant Disease*, 93: 1093-1101.
- Chen, X.M. 2005. Epidemiology and control of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) on wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 27: 314-337.
- Chen, X.M. 2007. Challenges and solutions for stripe rust control in the United States. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58: 648-655.
- Chen, X.M., Moore, M., Milus, E.A., Long, D.L., Line, R.F., Marshall, D. and Jackson, L. 2002. Wheat stripe rust epidemics and races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in the United States in 2000. *Plant Disease*, 86: 39-46.

- Chen, X.M., Penman, L., Wan, A.M. and Cheng, P. 2010. Virulence races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in 2006 and 2007 and development of wheat stripe rust and distributions, dynamics, and evolutionary relationships of races from 2000 to 2007 in the United States. *Can. J. Plant Pathol*, 35: 315-333.
- Cheng, P. and Chen, X.M. 2014. Virulence and molecular analyses support asexual reproduction of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in the U.S. Pacific Northwest. *Phytopathology*, 104: 1208-1220.
- Cheng, P., Chen, X.M., Xu, L.S. and See, D.R. 2012. Development and characterization of expressed sequence tag-derived microsatellite markers for the wheat stripe rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Molecular Ecology Research*, 12: 779-781.
- Çat, A., Tekin, M., Çatal, M., Akan, K. ve Akar, T. 2017. Buğdayda sarı pas hastalığı ve dayanıklılık ıslahı çalışmaları. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 30(2): 97-105.
- Çetin, L., Düşünceli, F., Albustan, S., Bolat, N., Yıldırım, A.F., Hekimhan, H., Camcı, H. ve Ekiz, H. 2000. 1995-1998 yılları arasında Orta Anadolu buğday alanlarında sarı pas (*Puccinia striiformis*) virulanslarının dört lokasyonda kapan norserileriyle belirlenmesi. Orta Anadolu'da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu, Konya, Türkiye, s. 414-417.
- Duan, X.Y., Tellier, A., Wan, A.M., Leconte, M., de Vallavieille-Pope, C. and Enjalbert, J. 2010. *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* presents high diversity and recombination in the over-summering zone of Gansu-China. *Mycologia*, 102: 44-53.
- Düşünceli, F., Çetin, L., Albustan, S. ve Ekiz, H. 2000. Orta Anadolu buğday ekilişlerinde pas hastalıklarının (*Puccinia* spp.) yaygınlığı, önemi ve alınması gereken tedbirler. Orta Anadolu'da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu, Konya, s. 693-696.
- El Amil, R., Ali, S., Bahri, B., Leconte, M., de Vallavieille-Pope, C. and Nazari, K. 2020. Pathotype diversification in the invasive PstS2 clonal lineage of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* causing yellow rust on durum and bread wheat in Lebanon and Syria in 2010–2011. *Plant Pathol*, 69: 618– 630.
- Enjalbert, J., Duan, X., Giraud, T., Vautrin, D., De Vallavieille-Pope, C. and Solignac, M. 2002. Isolation of twelve microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Mol. Ecol. Notes*, 2: 563-565.
- Enjalbert, J., Duan, X., Leconte, M., Hovmöller, M.S. and de Vallavieille-Pope, C. 2005. Genetic evidence of local adaptation of wheat yellow rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) within France. *Mol. Ecol*, 14: 2065-2073.
- Eriksson, J. 1894. Über die Spezialisierung des Parasitismus bei dem Getreiderostpilzen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 12: 292-331.
- Excoffier, L. 2006. Arlequin 3.11 copyright 2006. *CMPG University of Berne*.
- FAO 2019: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. [Son erişim tarihi: 10.01.2021].

- Gassner, G. and Straib, W. 1932. Die bestimmung der biologische rasen des weizengelbrostes (*Puccinia glumarum* f.sp. *tritici* (Schmt.) Erikss. und Henn). Arbeiten des Forschungsinstitutes fiir Kar-toffelbau an der Biologischen Reiehsanstalt fiir Land- und Forstwirtschaft, 20: 141-163.
- Gassner, G. and Straib, W. 1933. Uber mutation in einer biologischen Rasse von *Puccinia glumarum tritici* (Schmidt). Erikss. U. Henn. *Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre*, 63: 154-160.
- Groth, J.V., McCain, J.W. and Roelfs, A.P. 1995. Virulence and isozyme diversity of sexual versus asexual collections of *Uromyces appendiculatus*. *Heredity*, 75: 234-242.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T. and Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1): 9.
- Hovmøller, M.S. and Justesen, A.F. 2007. Rates of evolution of avirulence phenotypes and DNA markers in a northwest European population of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Molecular Ecology*, 16: 4637-4647.
- Hovmøller, M.S., Patpour, M., Rodriguez-Algaba, J., Thach, T., Justesen, A.F. and Hansen, J.G. 2020. GRRC annual report 2019: Stem- and yellow rust genotyping and race analyses. www.wheatrust.org, Aarhus University, Department of Agroecology, DK- 4200 Slagelse, Denmark.
- Hovmøller, M.S., Patpour, M., Rodriguez-Algaba, J., Thach, T., Justesen, A.F. and Hansen, J.G. 2019. GRRC annual report 2018: Report for *Puccinia striiformis* race analyses/molecular genotyping. www.wheatrust.org, Aarhus University, Department of Agroecology, DK- 4200 Slagelse, Denmark.
- Hovmøller, M.S., Patpour, M., Rodriguez-Algaba, J., Thach, T., Justesen, A.F. and Hansen, J.G. 2018. GRRC annual report 2017: Report for *Puccinia striiformis* race analyses and molecular genotyping. www.wheatrust.org, Aarhus University, Department of Agroecology, DK- 4200 Slagelse, Denmark.
- Hovmøller, M.S., Patpour, M., Rodriguez-Algaba, J., Thach, T., Justesen, A.F. and Hansen, J.G. 2017a. GRRC annual report 2016: Report for *Puccinia striiformis* race analyses and molecular genotyping. www.wheatrust.org, Aarhus University, Department of Agroecology, DK- 4200 Slagelse, Denmark.
- Hovmøller, M.S., Rodriguez-Algaba, J., Thach, T. and Sørensen, C.K. 2017b. Race Typing of *Puccinia striiformis* on Wheat. *Wheat Rust Diseases*, 29–40.
- Hovmøller, M.S., Walter, S., Bayles, R.A., Hubbard, A., Flath, K., Sommerfeldt, N., Leconte, M., Czembor, P., Rodriguez-Algaba, J., Thach, T., Hansen, J.G., Lassen, P., Justesen, A.F., Ali, S. and de Vallavieille-Pope, C. 2016. Replacement of the European wheat yellow rust population by new races from the centre of diversity in the near-Himalayan region. *Plant Pathology*, 65: 402-411.
- Hovmøller, M.S., Yahyaoui, A.H., Milus, E.A. and Justesen, A.F. 2008. Rapid global spread of two aggressive strains of a wheat rust fungus. *Molecular Ecology*, 17: 3818-3826.

- Hu, X., Li, J., Wang, Y., Wang, B., Li, Q., Kang, Z., Yang, M., Peng, Y., Liu, T., Chen, W. and Xu, X. 2012. Race composition of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Tibet, China. *Plant Disease*, 96: 1615-1620.
- İren, S. 1964. Türkiye’de 1963 yılı hububat pas türleri ve zarar ve yayılışları üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 4: 141-159.
- Jin, Y., Szabo, L.J. and Carson, M. 2010. Century-old mystery of *Puccinia striiformis* life history solved with the identification of *Berberis* as an alternate host. *Phytopathology*, 100: 432-435.
- Johnson, R., Stubbs, R.W., Fuchs, E. and Chamberlain, N.H. 1972. Nomenclature for physiological races of *Puccinia striiformis* infecting wheat. Transactions of the British Mycological Society, 58: 475-480.
- Khan, M.R., Imtiaz, M., Ahmad, B., Munir, A., Rattu, A. U. R., Facho, Z. H. and Ali, S. 2020. Diversity in *Puccinia striiformis* populations causing the 2013 yellow rust epidemics on major wheat cultivars of Pakistan. *Mycologia*, 112 (5): 871-879.
- Line, R.F. 2002. Stripe rust of wheat and barley in North America: a retrospective/historical review. *Annu. Rev. Phytopathol*, 40:75-118.
- Line, R.F. and Qayoum, A. 1992. Virulence, aggressiveness, evolution, and distribution of races of *Puccinia striiformis* in North America, 1968-87. Technical Bulletin Number 1788. United States Department of Agriculture, *Agricultural Research Service*, 44 pp.
- Liu, K. and Muse, S.V. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21(9): 2128-2129.
- Louwens, J.M., van Silfhout, C.H. and Stubbs, R.W. 1992. Race analysis in wheat in developing countries. Report 1990–1992. IPO-DLO Report 1992-11, 23 pp.
- Mamluk, O.F., Cetin, L., Braun, H.J., Bolat, N., Bertschinger, L., Makkouk, K.M., Yildirim, A.F., Saari, E.E., Zencirci, N., Albustan, S., Cali, S., Beniwal, S.S. and Dusunceli, F. 1997. Current status of wheat and barley diseases of Central Anatolia Plateau of Turkey. *Phytopathology*, 36: 167-181.
- Mboup, M., Leconte, M., Gautie, A., Wan, A.M., Chen, W.Q., de Vallavielle-Pope, C. and Enjalbert, J. 2009. Evidence of genetic recombination in wheat yellow rust population of a Chinese over-summering area. *Fungal Genetics and Biology*, 46: 299–307.
- McDonald, B.A. and Linde, C. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol*, 40: 349-379.
- McIntosh, R.A. 2009. History and status of the wheat rusts. In: McIntosh RA (ed), Proceedings of the Borlaug Global Rust Initiative 2009 Technical Workshop, BGRI, Obregon, Mexico, pp 11-23.
- McNeal, F.M., Konzak, C.F., Smith, E.P., Tate, W.S. and Russell, T.S. 1971. A system for recording and processing cereal research data. *US Agric Res Serv* 42: 34–121.
- Mehmood, S., Sajid, M., Husnain, S.K., Zhao, J., Huang, L. and Kang, Z. 2020. Study of Inheritance and Linkage of Virulence Genes in a Selfing Population of a

- Pakistani Dominant Race of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Int. J. Mol. Sci*, 21 (5): 1685.
- Mert, Z. 2010. Ülkesel Serin İklim Tahıl Hastalıkları Araştırmaları Projesi. Serin İklim Tahılları Araştırmaları Program Değerlendirme Toplantısı, Antalya, Yayınlanmamış.
- Mert, Z., Dusunceli, F., Akan, K., Cetin, L., et al. 2012. An overview of the network for important cereal diseases management research in Turkey between 2003 and 2011. The Proceedings of 13th International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference, Beijing, China, pp. 208-209.
- Mert, Z., Nazari, K., Karagoz, E., Akan, K., Ozturk, I. and Tulek, A. 2016. First incursion of the warrior race of wheat stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) to Turkey in 2014. *Plant Diseases*, 100(2): 528.
- Morgounov, A., Braun, H.J., Ketata, H. and Paroda, R. 2005. International cooperation for winter wheat improvement in central Asia: results and perspectives. *Turk. J. Agric. For*, 29: 137-142.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat*, 106: 283-283.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics, Columbia university press. 514 s.
- Ordoñez, M. E., and Kolmer, J. A. 2007. Simple sequence repeat diversity of a worldwide collection of *Puccinia triticina* from durum wheat. *Phytopathology* 97: 574-583.
- Özgen, M. ve Kınacı, E. 1985. Bitkilerde hastalıklara dayanıklılık, dayanıklılık ıslahı yöntemleri ve yeni gelişmeler. Buğday ve Mısır Hastalıkları Semineri, Ankara, s. 69-86.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Prescott, J.M., Saari, E.E. and Dubin, H.J. 1986. Cereal Disease Methodology Manual, CIMMYT, Mexico, 46 p.
- Rambaut, A. (2018). FigTree v.1.4.4. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. [Son erişim tarihi: 25.10.2020].
- Rodriguez-Algaba, J., Hovmöller, M.S. and Justesen, A.F. 2020. Sexual recombination within the ‘Kranich’ race of the yellow rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* on *Berberis vulgaris*. *Eur. J. Plant. Pathol*, 156: 1169–1173.
- Saari, E.E. and Prescott, J.M. 1985. World distribution in relation to economic losses. In: Roelfs AP, Bushnell WR (Eds), The Cereal Rusts. Academic Press, Orlando, pp. 259-298.
- Schwessinger, B. 2017. Fundamental wheat stripe rust research in the 21st century. *New Phytologist*, 213: 1625-1631.
- Shahin, A., Draz, I. and Esmail, S. 2020. Race specificity of stripe rust resistance in relation to susceptibility of Egyptian wheat cultivars. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 48(1): 1-13.

- Shahin, A.A. 2020. Occurrence of new races and virulence changes of the wheat stripe rust pathogen (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) in Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(11-12): 552-569.
- Sharma-Poudyal, D., Chen, X.M., Wan, A.M., et al. 2013. Virulence characterization of international collections of the wheat stripe rust pathogen, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Plant Diseases*, 97: 379-386.
- Sharma-Poudyal, D., Bai, Q., Wan, A., Wang, M., See, D. and Chen, X. 2020. Molecular Characterization of International Collections of the Wheat Stripe Rust Pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Reveals High Diversity and Intercontinental Migration. *Phytopathology*, 110(4): 933-942.
- Singh, R.P., Huerta-Espino, J. and Roelfs, A.P. 2012. The wheat rusts. <http://www.fao.org/docrep/006/Y4011E/y4011e0g.htm> Son Erişim Tarihi: 26 Mart 2017.
- Singh, R.P., William, H.M., Huerta-Espino, J. and Rosewarne, G. 2004. Wheat rust in Asia: meeting the challenges with old and new technologies. In: Fischer T, Turner N, Angus J, McIntyre L, Robertson M, Borrell A, Lloyd D (Eds), *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress*, Brisbane, Australia, pp. 1-13.
- Sorensen, C.K., Thach, T. and Hovmoller, M.S. 2016. Evaluation of spray and point inoculation methods for the phenotyping of *Puccinia striiformis* on wheat. *Plant Disease*, 100: 1064-1070.
- Stubbs, R.W. 1985. Stripe rust. Page 61-101 in: *The Cereal Rusts II. Diseases, Distribution, Epidemiology and Control*. A. P. Roelfs and W. R. Bushnell, eds. Academic Press, New York.
- Stubbs, R.W. 1988. Pathogenicity analysis of yellow (stripe) rust of wheat and its significance in a global context. In: Simmonds NW, Rajaram S (Eds), *Breeding Strategies for Resistance to the Rusts of Wheat*, CIMMYT, Mexico, pp. 23-38.
- Thach, T., Ali, S., de Vallavieille-Pope, C., Justesen, A.F. and Hovmøller, M.S. 2016. *Fungal Genet Biol.*, 87: 1-8.
- TÜİK 2019: http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?alt_id=1001. [Son erişim tarihi: 06.10.2020].
- Walter, S., Ali, S., Kemen, E., Nazari, K., Bahri, B.A., Enjalbert, J., Hansen, J.G., Brown, J.K.M., Sicheritz-Ponten, T., Jones, J., de Vallavieille-Pope, C., Hovmøller, M.S. and Justesen, A.F. 2016. Molecular markers for tracking the origin and worldwide distribution of invasive strains of *Puccinia striiformis*. *Ecology and Evolution*, 6(9): 2790-2804.
- Wan, A.M. and Chen, X.M. 2014. Virulence characterization of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* using a new set of Yr single-gene line differentials in the United States in 2010. *Plant Disease*, 98: 1534-1542.
- Wan, A.M., Chen, X.M. and Yuen, J. 2016. Races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in the United States in 2011 and 2012 and comparison with races in 2010. *Plant Disease*, 100(5): 966-975.

- Wan, A.M., Zhao, Z.H., Chen, X.M., He, Z.H., Jin, S.L., Jia, Q.Z., Yao, G., Yang, J., Wang, B., Li, G., Bi, Y. and Yuan, Z. 2004. Wheat stripe rust epidemic and virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China in 2002. *Plant Disease*, 88: 896-904.
- Wang, B., Hu, X., Li, Q., Hao, B., Zhang, B., Li, G. and Kang, Z. 2010. Development of race-specific SCAR markers for detection of Chinese races CYR32 and CYR33 of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease*, 94: 221-228.
- Wang, M.N. and Chen, X.M. 2013. First report of Oregon grape (*Mahonia aquifolium*) as an alternate host for the wheat stripe rust pathogen (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) under artificial inoculation. *Plant Disease*, 97: 839.
- Wellings, C.R. 2007. *Puccinia striiformis* in Australia: a review of the incursion, evolution, and adaptation of stripe rust in the period 1979–2006. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58: 567–575.
- Wellings, C.R. 2011. Global status of stripe rust: a review of historical and current threats. *Euphytica*, 179: 129–141.
- Wellings, C.R. and McIntosh, R.A. 1990. *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Australasia: Pathogenic changes during the first 10 years. *Plant Pathology*, 39: 316-325.
- Wellings, C.R., McIntosh, R.A. and Walker, J. 1987. *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in eastern Australia-possible means of entry and implications for plant quarantine. *Plant Pathology*, 36: 239-241.
- Wellings, C.R., Wright, D.G., Keiper, F. and Loughman, R. 2003. First detection of wheat stripe rust in Western Australia: evidence for a foreign incursion. *Australasian Plant Pathology*, 32: 321-322.
- Xia, C.J., Wan, A.M., Wang, M.N., Jiwan, D.A., See, D.R. and Chen, X.M. 2016. Secreted protein gene derived-single nucleotide polymorphisms (SP-SNPs) reveal population diversity and differentiation of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in the United States. *Fungal Biology*, 120: 729-744.
- Xia, C.J., Wang, M.N., Yin, C.T., Cornejo, O.E., Hulbert, S.H. and Chen, X.M. 2018. Genomic insights into host adaptation between the wheat stripe rust pathogen (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) and the barley stripe rust pathogen (*Puccinia striiformis* f. sp. *hordei*). *BMC Genomics*, 19: 664.
- Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T.B.J., Ye, Z.H. and Mao, J.X. 1997. POPGENE, the user friendly shareware for population genetic analysis. <https://sites.ualberta.ca/~fye/popgene.html>. [Son erişim tarihi: 25.10.2020].
- Zeng, S.M., and Luo, Y. 2006. Long-distance spread and interregional epidemics of wheat stripe rust in China. *Plant Dis*, 90: 980-988.
- Zeybek, A. and Yiğit, F. 2004. Determination of virulence genes frequencies in wheat stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) populations during natural epidemics in the regions of Southern Aegean and Western Mediterranean in Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(11): 1967-1971.
- Zhan, G., Chen, X., Kang, Z., Huang, L., Wang, M., Wan, A., Cheng, P., Cao, S. and Jin, S. 2012. Comparative virulence phenotypes and molecular genotypes of

Puccinia striiformis f. sp. *tritici*, the wheat stripe rust pathogen in China and the United States. *Fungal Biology*, 116: 643-653.

Zhao, J., Wang, L., Wang, Z., Chen, X., Zhang, H., Yao, J., Zhan, G., Chen, W., Huang, L. and Kang, Z. 2013. Identification of eighteen *Berberis* species as alternate hosts of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* and virulence variation in the pathogen isolates from natural infection of barberry plants in China. *Phytopathology*, 103: 927-934.

Zhao, J., Wang, M.N., Chen, X.M., and Kang, Z.S. 2016. Role of alternate hosts in epidemiology and pathogen variation of cereal rusts. *Annual Review Phytopathology*, 54: 207-228.

Zheng, W.M., Huang, L.L., Huang, J.Q., Wang, X.J. et al. 2013. High genome heterozygosity and endemic genetic recombination in the wheat stripe rust fungus. *Nature Communications*, 4: 2673.



8. EKLER

Ek-1. Çalışmada kullanılan lokusların allel frekansları

Lokus	Allel	Akdeniz	Ege	2008	2011	2012	2017
RJ8N	307	0.58	0.65	0.50	0.50	0.50	1.00
	317	0.42	0.35	0.50	0.50	0.50	0.00
RJ18	335	1.00	0.88	0.00	1.00	1.00	1.00
	358	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00
RJ20	303	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
RJ21	170	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
CPS02	105	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00	1.00
	117	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
CPS04	258	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
CPS08	184	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	196	0.23	0.54	1.00	0.00	1.00	1.00
	216	0.73	0.46	0.00	1.00	0.00	0.00
CPS13	130	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PstP001	360	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PstP002	355	0.75	0.73	0.50	1.00	0.50	0.50
	360	0.25	0.27	0.50	0.00	0.50	0.50
PstP003	224	0.53	0.67	0.50	0.00	0.50	0.00
	241	0.47	0.33	0.50	1.00	0.50	0.00
PstP004	500	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PstP005	310	1.00	0.92	1.00	1.00	1.00	1.00
	330	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00
PstP006	243	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Ek-1'in devamı

PstP007	306	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PstP008	454	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PstP025	358	0.20	0.41	0.50	0.00	0.50	0.50
	364	0.60	0.41	0.00	1.00	0.00	0.00
	385	0.20	0.18	0.50	0.00	0.50	0.50
PstP029	191	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PstP030	280	0.67	0.54	0.00	0.00	0.00	0.00
	294	0.33	0.46	1.00	1.00	1.00	1.00
PstP031	277	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PstP033	433	0.83	0.73	0.50	0.50	0.50	0.50
	446	0.17	0.27	0.50	0.50	0.50	0.50
	Ortalama	1.43	1.48	1.19	1.10	1.24	1.10
	Hata±	0.15	0.13	0.11	0.07	0.10	0.10

Ek-2. Çalışmada hesaplanan genetik çeşitlilik parametreleri

Popülasyon	Lokus	N	Na	Ne	I	Ho	He	UHe
	RJ8N	13	2.00	1.95	0.68	0.85	0.49	0.51
	RJ18	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ20	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ21	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS02	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS04	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS08	15	3.00	1.69	0.68	0.40	0.41	0.42
	CPS13	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP001	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Akdeniz	PstP002	12	2.00	1.60	0.56	0.50	0.38	0.39
	PstP003	15	2.00	1.99	0.69	0.93	0.50	0.51
	PstP004	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP005	14	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP006	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP007	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP008	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP025	10	3.00	2.27	0.95	0.50	0.56	0.59
	PstP029	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP030	15	2.00	1.80	0.64	0.00	0.44	0.46
	PstP031	15	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP033	15	2.00	1.38	0.45	0.33	0.28	0.29
	Ortalama	14.38	1.43	1.27	0.22	0.17	0.15	0.15
	Hata±	0.28	0.14	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05

Ek-2'in devamı

	RJ8N	13	2.00	1.83	0.65	0.69	0.45	0.47
	RJ18	12	2.00	1.28	0.38	0.08	0.22	0.23
	RJ20	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ21	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS02	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS04	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS08	13	2.00	1.99	0.69	0.31	0.50	0.52
	CPS13	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP001	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Ege	PstP002	11	2.00	1.66	0.59	0.55	0.40	0.42
	PstP003	12	2.00	1.80	0.64	0.67	0.44	0.46
	PstP004	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP005	12	2.00	1.18	0.29	0.17	0.15	0.16
	PstP006	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP007	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP008	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP025	11	3.00	2.72	1.04	0.82	0.63	0.66
	PstP029	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP030	13	2.00	1.99	0.69	0.00	0.50	0.52
	PstP031	13	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP033	13	2.00	1.65	0.58	0.54	0.39	0.41
	Ortalama	12.67	1.48	1.34	0.26	0.18	0.18	0.18
	Hata±	0.14	0.13	0.11	0.07	0.06	0.05	0.05
	RJ8N	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00

Ek-2'in devamı

	RJ18	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ20	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ21	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS02	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS04	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS08	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS13	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP001	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2008	PstP002	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	PstP003	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	PstP004	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP005	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP006	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP007	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP008	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP025	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	PstP029	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP030	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP031	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP033	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	Ortalama	0.95	1.19	1.19	0.17	0.24	0.12	0.24
	Hata±	0.05	0.11	0.11	0.07	0.10	0.05	0.10
	RJ8N	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	RJ18	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Ek-2'in devamı

	RJ20	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ21	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS02	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS04	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS08	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS13	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP001	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2011	PstP002	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP003	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP004	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP005	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP006	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP007	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP008	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP025	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP029	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP030	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP031	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP033	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	Ortalama	1.00	1.10	1.10	0.07	0.10	0.05	0.10
	Hata±	0.00	0.07	0.07	0.05	0.07	0.03	0.07
	RJ8N	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	RJ18	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ20	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Ek-2'in devamı

	RJ21	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS02	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS04	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS08	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS13	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP001	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2012	PstP002	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	PstP003	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	PstP004	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP005	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP006	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP007	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP008	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP025	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	PstP029	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP030	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP031	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP033	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	Ortalama	1.00	1.24	1.24	0.17	0.24	0.12	0.24
	Hata±	0.00	0.10	0.10	0.07	0.10	0.05	0.10
	RJ8N	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ18	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ20	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	RJ21	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Ek-2'in devamı

	CPS02	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS04	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS08	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CPS13	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP001	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2017	PstP002	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	PstP003	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP004	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP005	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP006	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP007	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP008	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP025	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	PstP029	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP030	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP031	1	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PstP033	1	2.00	2.00	0.69	1.00	0.50	1.00
	Ortalama	0.95	1.10	1.10	0.10	0.14	0.07	0.14
	Hata±	0.05	0.10	0.10	0.05	0.08	0.04	0.08

Ek-3. Çalışmada kullanılan SSR primerlerine ilişkin hesaplanan değerler

Primer	Uygunluk	Gen çeşitliliği	Heterozigotluk	PIC
RJ8N	0.94	0.47	0.76	0.36
RJ18	0.88	0.10	0.04	0.09
RJ20	1.00	0.00	0.00	0.00
RJ21	1.00	0.00	0.00	0.00
CPS02	1.00	0.06	0.00	0.06
CPS04	1.00	0.00	0.00	0.00
CPS08	1.00	0.51	0.31	0.39
CPS13	1.00	0.00	0.00	0.00
PstP001	1.00	0.00	0.00	0.00
PstP002	0.84	0.40	0.56	0.32
PstP003	0.94	0.49	0.80	0.37
PstP004	1.00	0.00	0.00	0.00
PstP005	0.94	0.06	0.07	0.06
PstP006	1.00	0.00	0.00	0.00
PstP007	1.00	0.00	0.00	0.00
PstP008	1.00	0.00	0.00	0.00
PstP025	0.78	0.64	0.68	0.56
PstP029	1.00	0.00	0.00	0.00
PstP030	1.00	0.49	0.00	0.37
PstP031	1.00	0.00	0.00	0.00
PstP033	1.00	0.38	0.50	0.31

Ek-4. Popülasyonlar arası allelik çeşitlilik değerleri

Parametreler	Akdeniz	Ege	2008	2011	2012	2017
Na	1.43	1.48	1.19	1.10	1.24	1.10
Na Frekans $\geq 5\%$	1.38	1.48	1.19	1.10	1.24	1.10
Ne	1.27	1.34	1.19	1.10	1.24	1.10
I	0.22	0.26	0.17	0.07	0.17	0.10
Özgün allel sayısı	0.05	0.10	0.00	0.00	0.05	0.00
Allel frekansı ($\leq 25\%$)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Allel frekansı ($\leq 50\%$)	0.14	0.14	0.00	0.10	0.00	0.00
He	0.15	0.18	0.12	0.05	0.12	0.07
uHe	0.15	0.18	0.24	0.10	0.24	0.14
Standart hata değerleri	Akdeniz	Ege	2008	2011	2012	2017
Na	0.15	0.13	0.11	0.07	0.10	0.10
Na Frekans $\geq 5\%$	0.13	0.13	0.11	0.07	0.10	0.10
Ne	0.09	0.11	0.11	0.07	0.10	0.10
I	0.07	0.07	0.07	0.05	0.07	0.05
Özgün allel sayısı	0.05	0.07	0.00	0.00	0.05	0.00
Allel frekansı ($\leq 25\%$)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Allel frekansı ($\leq 50\%$)	0.08	0.08	0.00	0.07	0.00	0.00
He	0.05	0.05	0.05	0.03	0.05	0.04
uHe	0.05	0.05	0.10	0.07	0.10	0.08

Ek-5. Akdeniz ve Ege bölgelerinden toplanan *Pst* izolatlarının coğrafik konumları

İzolat No	İl	İlçe	Enlem	Boylam
TRYR1	Adana	Sarıçam	37.065.388	35.448.363
TRYR2	Mersin	Tarsus	36.953.038	35.003.451
TRYR3	Antalya	Manavgat	36.730.564	31.543.565
TRYR4	Antalya	Serik	36.291.584	32.310.251
TRYR5	Antalya	Döşemealtı	37.0764	30.6279
TRYR6	Kahramanmaraş	Onikişubat	37.53404	36.91379
TRYR7	Antalya	Kemer	36.461.312	30.428.981
TRYR8	Antalya	Demre	36.2613	29.8739
TRYR9	Isparta	Merkez	37.83239	30.60146
TRYR10	Burdur	Bucak	37.308936	30.323039
TRYR11	Antalya	Elmalı	36.681535	29.919752
TRYR12	Afyonkarahisar	Merkez	38.795295	30.453752
TRYR13	Denizli	Acıpayam	37.508636	29.408215
TRYR14	Burdur	Merkez	37.652.967	30.372.655
TRYR15	Isparta	Yalvaç	38.196318	31.247364
TRYR16	Hatay	Dört Yol	36.876.159	36.150.283
TRYR17	Mersin	Çamlıyayla	37.834.000	34.361.724
TRYR18	Muğla	Menteşe	37.198141	28.355936
TRYR19	Denizli	Pamukkale	37.980.121	29.051.374
TRYR20	Manisa	Salihli	38.498455	28.206885
TRYR21	Aydın	Germencik	37.877.809	27.546.949

Ek-5'in devamı

TRYR22	İzmir	Menemen	381.168	2.739.545
TRYR23	İzmir	Menemen	38.633.482	27.067.438
TRYR24	Manisa	Sarıgöl	38.259.382	28.645.753
TRYR25	Muğla	Fethiye	36.75609	29.232.041
TRYR26	Uşak	Merkez	38.668332	29.110607
TRYR27	Afyonkarahisar	Dinar	38.092.987	30.249.961
TRYR28	Kütahya	Merkez	39.512929	29.840578

ÖZGEÇMİŞ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2016-2021	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans 2012-2015	Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Isparta
Lisans 2007-2012	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırma Görevlisi 2016-Devam Ediyor	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya
Araştırma Görevlisi 2014-2015	Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Isparta
Araştırma Görevlisi 2013-2014	Siirt Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Siirt

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1-Tekin M., Çat A., Sönmez S. and Akar T. (2020). Identification of Durum Wheat Cultivars and Their Tetraploid Relatives with Low Cadmium Content, Food Technology and Biotechnology, 58(1), 49-56.
- 2-Üstün R., Çat A., Uzun B. and Çatal M. (2019). First Report of *Alternaria alternata* Causing Leaf Spot Disease on Soybean (*Glycine max*) in Antalya Province of Turkey, Plant Disease, 103(12), 3284-3284.
- 3-Çat A., Tekin M., Akar T. and Çatal M. (2019). First report of *Stagonospora nodorum* blotch caused by *Parastagonospora nodorum* on emmer wheat (*Triticum dicoccum* Schrank) in Turkey, Journal of Plant Pathology, 101, 433-433.
- 4-Doğan A., Çat A., Çatal M. and Erkan M. (2018). First report of *Alternaria alternata* causing postharvest decay in fig (*Ficus carica* L. cv. Bursa Siyahi) fruit in Turkey, Journal of Biotechnology, 280, S84-S84.
- 5-Üstün R., Çat A., Çatal M. and Uzun B. (2018). First report of *Fusarium proliferatum* causing seed rot on soybean (*Glycine max*) in Turkey, Journal of Biotechnology, 280, S28-S29.
- 6-Tekin M., Çat A., Çatal M. ve Akar T. (2018). Türk arpa (*Hordeum vulgare* L.) köy çeşitlerinin küllemeye karşı dayanıklılığın belirlenmesi, Mediterranean Agricultural Sciences, 31(3), 219-225.
- 7-Çat A., Çomak T. ve Çatal M. (2018). İstiridye mantarının (*Pleurotus ostreatus*) tohumluk misel üretimi üzerine bir ön çalışma, Mediterranean Agricultural Sciences, 31(1), 21-25.
- 8-Çat A., Tekin M., Çatal M., Akan K. ve Akar T. (2017). Buğdayda sarı pas hastalığı ve dayanıklılık ıslahı çalışmaları, Mediterranean Agricultural Sciences, 30, 97-105.
- 9-Tekin M., Avcı M., Çat A. ve Akar T. (2017). Dünyada ve Türkiye’de Toprak İşlemesiz Tarımın Durumu ve Benimsenmesi, Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi, 6, 22-34.
- 10-Çat A., Çulal-Kılıç H. ve Yardımcı N. (2016). Antalya İli ve İlçelerindeki Örtüaltı Hıyar (*Cucumis sativus* L.) ve Kabak (*Cucurbita pepo* L.) Üretim Alanlarında Viral Etmenlerin Saptanması, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20, 129-132.